R 260 (1)
9e ex

MÉMOIRES
DU
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

NOUVELLE SÉRIE

Série A, Zoologie

TOME LVIII

FASCICULE 2

François RAMADE

DONNÉES HISTOLOGIQUES, HISTOCHIMIQUES ET ULTRASTRUCTURALES SUR LA *PARS INTERCEREBRALIS* DE *MUSCA DOMESTICA* L.

PARIS

ÉDITIONS DU MUSÉUM

38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire (V^e^)

1969

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

L 2

MÉMOIRES DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Série A, Tome LVIII, Fasc. 2

DONNÉES HISTOLOGIQUES, HISTOCHIMIQUES ET ULTRASTRUCTURALES SUR LA *PARS INTERCEREBRALIS* DE *MUSCA DOMESTICA* L.

par

François RAMADE

SOMMAIRE

Pages

I. INTRODUCTION 114

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES 115

III. CARACTÈRES HISTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES DES CELLULES NEUROSÉCRÉTRICES CÉRÉBRALES 115

A. Anatomie microscopique de la *pars intercerebralis* 115

B. Étude histologique et histochimique des cellules neurosécrétrices cérébrales 117

1. Histologie des cellules neurosécrétrices 117

2. Histochimie des cellules neurosécrétrices 122

3. Variation d'activité des cellules neurosécrétrices en fonction de l'âge 124

C. Répartition des cellules neurosécrétrices dans les diverses régions cérébrales de *Musca domestica* L. 128

D. Les cellules vacuolaires 131

IV. ULTRASTRUCTURE DE LA *PARS INTERCEREBRALIS* 131

V. RÉSUMÉ ET DISCUSSION 135

BIBLIOGRAPHIE 138

Source : MNHN, Paris

I. INTRODUCTION

Les données histologiques et histochimiques sur les neurosécrétions dans le système nerveux central des Diptères brachycères adultes sont relativement peu nombreuses et fragmentaires.

Nayar (1955) a publié une description des cellules neurosécrétrices du cerveau et du ganglion thoracique de *Choetodacus cucurbitae* (Trypetidae). Miller (1950), Kopf (1957) et Rensing (1966) ont effectué un travail similaire chez *Drosophila melanogaster*, *Dr. hydei* et *Dr. funebris*. Hsiao et Fraenkel (1966) ont examiné la répartition des cellules A et B dans le système nerveux central de *Phormia regina* Meig. et tenté vainement de déceler les éléments qui élaborent le bursicon.

Arvy et Gabe (1963) ont pratiqué toute une série de tests histochimiques sur le cerveau de *Calliphora erythrocephala*, mais ils n'ont étudié qu'un nombre restreint d'insectes sans référence à leur état physiologique. M. Thomsen (1965) a publié une étude détaillée et d'une grande précision histologique sur les cellules neurosécrétrices cérébrales de *Calliphora erythrocephala*, complétée par des observations sur les effets du régime alimentaire et de l'âge sur l'activité de ces dernières; ce travail a cependant l'inconvénient de n'avoir fait appel qu'à une réaction signalétique à la fuchsine paraldéhyde, et de plus, d'être dépourvu de données histochimiques. En outre, *Calliphora erythrocephala* a fait l'objet de la seule étude en microscopie électronique des cellules neurosécrétrices médianes d'un Diptère (Bloch, E. Thomsen et M. Thomsen, 1966), travail qui a été publié peu avant notre note préliminaire sur l'ultrastructure de la *pars intercerebralis* chez *Musca domestica* (F. Ramade, 1966). Plus récemment, Possompes et coll. (1967) ont étudié les variations d'activité des cellules neurosécrétrices protocérébrales chez *Sarcophaga* en relation avec le développement ovarien.

En ce qui concerne la mouche domestique, il nous faut signaler les publications de Grandori et Care (1951, 1954), lesquels ont décrit l'existence de gliocytes géants et de cellules neurosécrétrices colorables à l'hématoxyline chromique dans la *pars intercerebralis* de cette espèce. Enfin, Grandori (1955), dans une note plus détaillée, réalisée en utilisant la technique de Gomori à l'hématoxyline chromique phloxine, a étudié les variations d'activité des cellules neurosécrétrices hématoxylinophiles pendant la vie nymphale et imaginale de *Calliphora erythrocephala* et de *Musca domestica*.

Certes, depuis la découverte par Weyer (1935) des cellules neurosécrétrices dans le cerveau de l'abeille domestique, de très nombreux travaux ont été consacrés à leur étude chez d'autres insectes. Toutefois, malgré la multiplicité des recherches entreprises, on ne sait à peu près rien aujourd'hui encore, sur la nature des neurohormones protocérébrales et sur leur localisation *in situ* dans les cellules qui les élaborent. Par ailleurs, on discute toujours sur l'unicité ou la pluralité des types cellulaires mis en évidence; les différences d'affinité tinctoriale que l'on observe, correspondraient, selon certains auteurs, à des cellules neurosécrétrices de catégories distinctes ayant chacune leur neurosécrétion propre, ou selon d'autres, aux diverses phases du cycle sécrétoire d'un unique type cellulaire.

Nous avons tenté, dans ce mémoire, de réaliser une étude d'ensemble des neurosécrétions cérébrales chez *Musca domestica* par l'usage de techniques histologiques, histochimiques et de la microscopie électronique et de déterminer leurs variations d'activité en fonction de l'âge. Nous espérons que les faits expérimentsux que nous avons dégagés contribueront à résoudre quelques-uns des problèmes fondamentaux de neuro-endocrinologie évoqués ci-dessus.

Avant d'aborder l'exposé de nos recherches, il nous est agréable de remercier Mme M. Raabe, Maître de Recherches au C.N.R.S. pour ses suggestions et conseils, ainsi que notre ancien élève et collaborateur M. J. L. Rivière, assistant à l'I.N.R.A. qui a réalisé plusieurs des réactions histochimiques auxquelles nous avons eu recours.

Source : MNHN, Paris

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nos recherches ont été effectuées uniquement sur des femelles adultes de *Musca domestica* L. Les conditions d'élevage ont été décrites par ailleurs [1]. Les mouches furent isolées dès leur sortie du puparium afin d'obtenir des échantillons de population d'âge bien déterminé.

Pour les études histologiques classiques, les mouches furent anesthésiées rapidement au CO_2 décapitées et disséquées dans le liquide physiologique d'Ephrussi et Beadle (1934), puis plongées dans le mélange fixateur. La plupart des fixations ont été réalisées au Helly (24 h à la glacière) ou au Bouin (72 h à la température ordinaire). En outre, quelques cerveaux furent fixés au Champy et au Carnoy. Après double inclusion gélose-paraffine, la plupart des coupes furent exécutées à 5 µ au microtome Leitz (lame Spencer).

Nous avons pratiqué quelques colorations d'histologie courante : hématoxyline ferrique eosine, bemalun ponceau de xylidine, acide phosphomolybdique, vert lumière (Patay, 1934), bemalun-picro-indigo-carmin, dans le but d'étudier l'anatomie microscopique du cerveau.

L'identification des cellules neurosécrétrices a été effectuée après coloration de Gomori à l'hématoxyline chromique phloxine (les cerveaux fixés au Bouin ont donné les meilleures images), ou à la fuchsine paraldehyde (dans ce cas, c'est après fixation au Helly que nous avons obtenu les colorations les plus intenses) et à l'azan. Quelques réactions à la thionine paraldéhyde et au bleu Victoria furent aussi pratiquées.

La recherche des acides nucléiques a été réalisée par la réaction de Feulgen et par coloration au vert de méthyle-pyronine, au bleu de toluidine tamponné au pH 4,6 et à la gallocyanine selon Einarson. Les mucopolysaccharides et les glycoprotéines furent caractérisés par la réaction de l'APS.

L'identification des protéines riches en cystéine et en cystine fut réalisée à l'aide des colorations au R-S-R, au ferricyanure ferrique (Chevremont et Frédéric, 1942), à l'acide performique bleu Alcian (Adams et Sloper, 1956), au D-D-D (Barnett et Seligman, 1952) et au neotetrazolium. La réaction argentaffine s'est avérée négative.

Enfin la recherche des phospholipides a été effectuée à l'aide des techniques de Ciaccio au noir Soudan et de celle au « Luxol Fast Blue ».

Pour les travaux de microscopie électronique, les dissections furent réalisées directement dans le fixateur, les mouches étant anesthésiées au préalable au CO_2 ou à l'éther, puis décapitées rapidement. Notons toutefois qu'aucune différence ultrastructurale n'a été observée entre cerveaux d'un même lot de mouches décapitées sans anesthésie préalable ou après anesthésie au CO_2 ou à l'oxyde d'éthyle.

Nous avons utilisé pour les fixations de l'acide osmique à 2 % tamponné à pH 7,6 (tampon phosphate de Millonig), pendant 2 à 4 heures à la glacière. Cependant nous avons réalisé en outre, dans quelques cas, une préfixation d'une heure dans une solution de glutaraldéhyde à 2,5 % suivie d'un lavage de 30 minutes dans le tampon phosphate (Millonig II) ; cette méthode modifie beaucoup l'aspect des mitochondries des neurones.

Les cerveaux ont été inclus après un bref lavage suivi d'une déshydratation dans de l'Araldite ou de l'Epon. Les meilleurs résultats furent obtenus après fixation pendant 3 heures à la glacière dans de l'acide osmique à 2 % tamponné à pH 7,6 (Millonig II) suivie d'inclusion à l'Epon.

Les coupes ultrafines ont été exécutées avec les ultramicrotomes Reichert OMU I et II, et examinées au microscope électronique Hitachi HS 7 après double coloration à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (Reynolds, 1961).

III. CARACTÈRES HISTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES DES CELLULES NEUROSECRÉTRICES CÉRÉBRALES

A. ANATOMIE MICROSCOPIQUE DE LA *PARS INTERCEREBRALIS* DE *MUSCA DOMESTICA*

A l'image de ce que l'on observe chez les autres insectes, la *pars intercerebralis* de la mouche domestique est située dans la région médio-dorsale du cerveau, entre les deux lobes protocérébraux, un peu en avant du pédoncule ocellaire, lequel résulte de la confluence des trois nerfs ocellaires en un faisceau unique (cf. fig. 1, Poc).

La surface cérébrale est en général de forme convexe au niveau de la *pars intercerebralis* mais il existe des variations individuelles car, chez quelques individus elle peut être concave. Dans un cas, nous avons même observé que la surface dorsale du cerveau présentait un profond sillon occupé par de nombreux adipocytes, cette disposition, atypique sinon aberrante chez la mouche domestique serait fréquente chez *Calliphora* selon Thomsen (1965).

1. Cf. F. Ramade, *Annales de l'I.N.A.*, t. V., 1967 (1968), p. 1-267.

Source : MNHN, Paris

En coupe transversale la *pars intercerebralis* se loge dans un sillon délimité par la surface des neuropiles, dont la profondeur va croissante d'avant en arrière, tandis que sa section, d'abord en V très ouvert, prend une forme en U (cf. fig. 2*a* et *b*). Elle est contiguë avec divers groupes de neurocytes et en profondeur avec le neuropile protocérébral. A la partie externe, dans sa région centrale, elle entre en contact avec le *perineurium* dont elle n'est séparée que par une mince couche de glioplasme, dont les noyaux s'observent

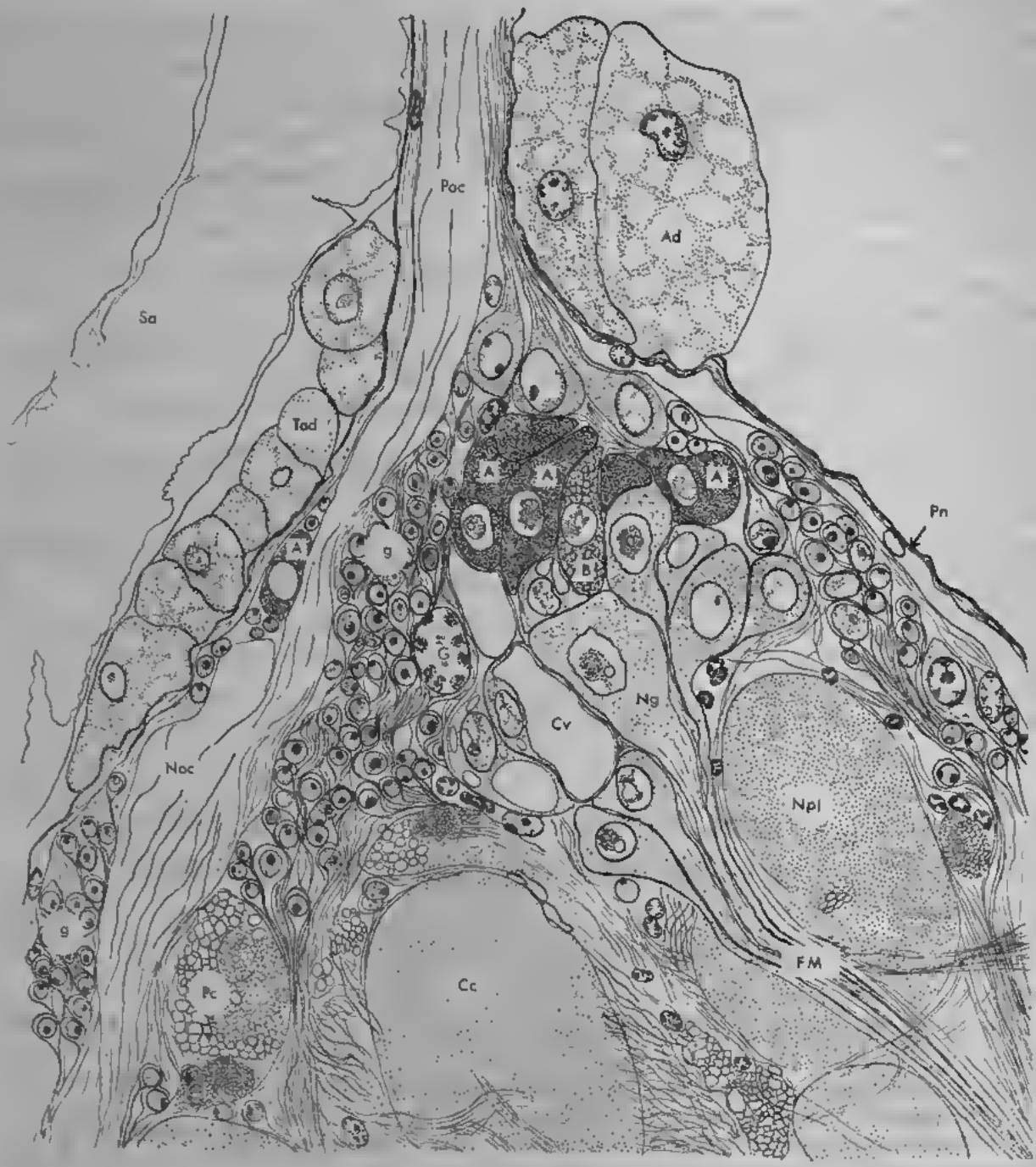


FIG. 1. — Coupe sagittale dans le cerveau d'une mouche domestique. On remarque au-dessous du pédoncule ocellaire, dont 3 périkaryons de neurones sensoriels sont bien visibles, la présence de plusieurs cellules neurosécrétrices A et d'une cellule neurosécrétrice B. Au-dessous existent quelques neurones géants et deux cellules vacuolaires (Cv).

Ad, adipocytes; Cc, corps central; Cv, cellules vacuolaires; Fm, faisceau médian; g, globuli; G, cellule névroglique géante de Grandori et Care; Ng, neurone géant; Noc, nerf ocellaire; Npl, neuropile; Pc, pont cérébral; Pn, perineurium; Poc, pédoncule ocellaire; Sa, sacs aériens; Tad, tissu adipeux.

Source : MNHN, Paris

par place. A la limite de la *pars intercerebralis* et des lobes latéraux, on observe de nombreux globuli et des neurones de plus grande taille [1] qui s'entremêlent plus ou moins avec les cellules neurosécrétrices. Sur certaines coupes les neurones d'association ocellaires sont bien visibles dans la partie supéro-postérieure de la *pars intercerebralis* et à la base du pédoncule ocellaire.

Deux gros troncs trachéens s'accolent au périlemme et pénètrent à l'intérieur du cortex cérébral; ils se divisent, dans la partie profonde de la *pars intercerebralis*, en plusieurs faisceaux trachéolaires : un d'entre eux, constitué de 5 à 7 trachéoles, est particulièrement reconnaissable au fond du sillon protocérébral (cf. pl. VI et fig. 2*b*). On observe en outre dans la *pars intercerebralis* 4 gliocytes géants.

Les neurones constituant la *pars intercerebralis* sont surtout représentés par des cellules neurosécrétrices et des neurocytes géants, entre lesquels on observe certaines cellules vacuolaires dont nous avons donné une description plus détaillée dans une note préliminaire (F. RAMADE, 1968).

B. ÉTUDE HISTOLOGIQUE ET HISTOCHIMIQUE DES CELLULES NEUROSÉCRÉTRICES CÉRÉBRALES

1. *Caractères histologiques des diverses catégories de cellules neurosécrétrices*

Il est d'usage, à la suite des travaux de NAYAR (1955), sur la *pars intercerebralis* d'*Iphita limbata* Stal et ceux de JOHANSSON sur le Lygaeide *Oncopeltus fasciatus* Dall., de distinguer parmi les cellules neurosécrétrices diverses catégories dénommées A, B, C et D. Selon NAYAR, les cellules A sont colorables en bleu par l'hématoxyline chromique et en rouge par l'azocarmin (coloration d'azan) tandis que les cellules B sont phloxinophiles et se colorent en bleu au bleu d'aniline de l'azan. Le terme de cellule Gomori positive semble avoir été généralisé par BERN (1962). Il désigne les cellules neurosécrétrices A et B qui réagissent positivement aux réactions de Gomori : hématoxyline chromique et fuchsine paraldéhyde (les cellules C d'*Oncopeltus* appartiendraient selon JOHANSSON à cette catégorie). Les cellules C des phasmides (RAABE, 1965) et les neurones dénommés par divers auteurs cellules D appartiennent au contraire au groupe Gomori négatif.

Nous nous heurtons ici à un des problèmes majeurs de l'histo-endocrinologie, celui des critères d'identification des cellules neurosécrétrices d'après leurs affinités tinctoriales et leurs caractères histologiques. BERN (1962), BERN et HAGADORN (1965) ont souligné la nature contingente de la définition d'une activité neurosécrétrice fondée sur les seuls critères morphologiques et de colorabilité : l'existence de matériel Gomori négatif dans certaines cellules neurosécrétrices du système nerveux central ou dans des localisations périphériques comme les organes périsympathiques des Phasmides (RAABE, 1965), mais aussi la grande variété d'inclusions acidophiles (dont les neuromélanines et autres pigments) se colorant à l'azocarmin ou même à la phloxine, incitent à la prudence. Rappelons aussi que même la présence de grains denses au niveau ultrastructural n'est pas un indice absolument certain d'une telle activité, ainsi BERN indique que chez la sangsue *Theromyzon rude*, tous les neurones cérébraux renferment de tels granules alors qu'en réalité seulement 5 % d'entre eux possèdent réellement une fonction neurohumorale. Cependant on s'entend actuellement pour considérer que l'existence d'un cycle sécrétoire lié à un ou plusieurs facteurs de nature physiologique (âge, régime alimentaire, sexualité) ou la présence de modification dans la charge cytoplasmique en matériel neurosécrété, provoquées par des manipulations expérimentales, constituent un indice certain d'une fonction neuroendocrine. Toutefois, la preuve formelle d'une élaboration de neurohormones réside dans l'isolement d'agents biochimiques provoquant des effets physiologiques mesurables.

En définitive, nous ne disposons pas encore de critères histologiques ou histochimiques permettant d'identifier catégoriquement une activité neurosécrétrice, ce qui complique beaucoup la mise en évidence des éléments neurosécréteurs Gomori négatifs.

Avec JOHANSSON (1958) et HIGHNAM (1961), nous distinguerons quatre catégories de neurones dans la *pars intercerebralis* de la mouche domestique. La première que nous dénommons neurones α correspond aux neurones géants (cellules D de JOHANSSON), les trois autres (neurones β) sont constituées par les cellules neurosécrétrices. Les neurones α dont l'activité neurohumorale est douteuse présentent une forte basophilie cytoplasmique assez uniforme : leur cytoplasme, très pyroninophile se teinte en bleu avec l'hémalun dans les

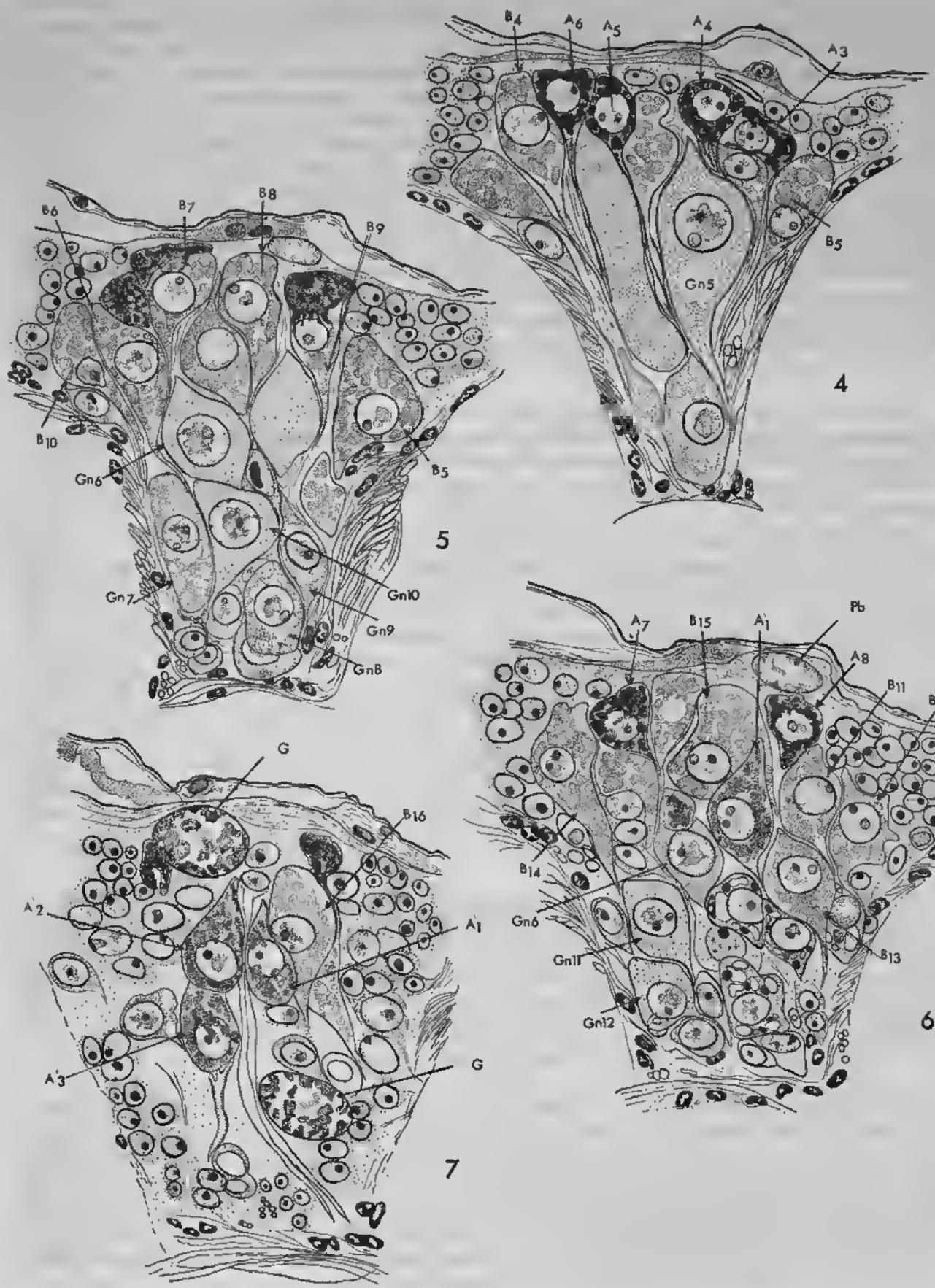
1. Nous dénommons ces derniers neurones type δ; ils présentent un noyau faiblement Feulgen positif alors que celui des globuli est beaucoup plus riche en chromatine.

Source : MNHN, Paris

FIG. 2*a* et *b*. — Coupes transversales de plus en plus postérieures de la *pars intercerebralis*. Dessins effectués d'aprés une préparation de cerveau fixé au Helly et coupée à 12 µ. Coloration à la fuchsine paraldéhyde hemalun picro-indigo-carmin. On remarque la présence de 8 cellules neurosécrétrices A, 3 cellules neurosécrétrices A', 16 B et 12 neurones Gomori négatifs (cellules C et neurones géants) et 3 cellules vasculaires en bas et à droite du dessin n° p. 119.

G, noyau de gliocyte géant de Grandori et Care; Pb, périblaste.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

trichromiques que nous avons utilisés pour l'histologie courante. Au contraire, les cellules neurosécrétrices, bien que basophiles, présentent dans leur cytoplasme des plages acidophiles d'étendue variable, colorables au ponceau de xylidine (Patay) ou au picro-indigo-carmin.

Les cellules neurosécrétrices se répartissent en deux groupes. Le premier groupe renferme des cellules de type A et B, Gomori positives, qui sont les plus nombreuses, le second des cellules de type C, Gomori négatives. Toutes les cellules neurosécrétrices et *a fortiori* les neurones géants (α) se caractérisent par un noyau plus grand et un cytoplasme plus abondant que ce que l'on observe dans les autres neurones protocérébraux. Elles se présentent sous l'aspect de neurones unipolaires, aux contours piriformes ou subovoïdes. Parmi les différentes colorations que nous avons utilisées, c'est pour l'azan qu'elles présentent les plus grandes affinités tinctoriales, leur cytoplasme bébergeant alors des flaques de matériel coloré de façon plus ou moins intense. Cependant, dans des colorations surcolorées à l'azan, on peut mettre en évidence dans certaines cellules neurosécrétrices des granulations présentant une affinité pour le bleu d'aniline.

Le noyau des cellules neurosécrétrices possède un vrai nucléole bien sphérique et un bloc hétérochromatique colorable au feulgen et au vert de métbyle dans le test de Unna. Par ailleurs comme celui des neurones géants, il ne se colore pas par le réactif de Feulgen, ce qui contraste avec la forte réaction positive des neurones normaux qui entourent la *pars intercerebralis*.

Les *cellules A* sont surtout localisées à la partie externe de la *pars intercerebralis*, parfois à proximité du *perineurium* avec lequel certaines sont en contact direct, n'en étant séparées que par leur enveloppe gliale. Leur cytoplasme se colore en rouge vif à l'azocarmin et présente des amas granulaires qui prennent fortement une teinte bleue à l'hématoxyline chromique ou violet pourpre à la fuchsine paraldéhyde (sauf chez les individus jeunes).

Très chromophile, le cytoplasme des cellules A retient aussi fortement la thionine paraldéhyde et le bleu Victoria. Le matériel neurosécrété qu'il renferme se teinte en jaune vert par le picro-indigo-carmin et en rouge vermillon au ponceau de xylidine. Une étude détaillée des cellules A, reposant sur l'examen de plusieurs centaines de coupes après coloration de Gomori, nous a conduit à en distinguer deux groupes : 1° Un groupe de cellules de type A (*sensu stricto*) au noyau oblong, disposées en surface, dont les granules de neurosécrétion sont confluents en grande plages à surface rugueuse qui se colorent en violet sombre par la fuchsine paraldéhyde. Celles-ci sont les plus nombreuses car nous en comptons 8 à 9 sur un total de 11 cellules neurosécrétrices de type A (*sensu lato*) nombre que l'on observe en moyenne dans la *pars intercerebralis;* 2° Un groupe de cellules que nous dénommerons de type A', au nombre de 3 à 4 selon les individus, caractérisées par un noyau subsphérique plus volumineux et un cytoplasme plus abondant; leur neurosécrétion plus finement granulaire prend à la fuchsine paraldéhyde un aspect plus pâle se rapprochant de la teinte des cellules neurosécrétrices de type B. Ces cellules A' sont toujours localisées dans la partie postérieure de la *pars intercerebralis*, à la limite du nerf ocellaire, en profondeur, intercalées entre les cellules B ou même sises au-dessous de ces dernières, en contact avec des neurones de type α.

Remarque. — La fuchsine paraldéhyde ne permet pas de distinguer les catégories A et B avec certitude chez des mouches jeunes, âgées de moins de 7 jours. Certaines cellules neurosécrétrices (cellules de type A *sensu stricto*) prennent avec ce colorant une teinte violet sombre (réaction colorée que nous désignons PF +++) d'autres (type A' et type B) une teinte violet pâle (PF +), mais il existe des éléments se colorant de façon intermédiaire et l'examen d'un grand nombre de cerveaux prélevés sur des femelles jeunes nous a montré que le groupe des cellules de type A *sensu stricto* repérable par leur localisation, pouvaient même se ranger dans le type PF +. Ces réactions tinctoriales PF ++ et PF + ne désignent donc, chez les individus jeunes, que des intensités de colorations et ne peuvent permettre de séparer avec certitude les catégories A et B : rappelons en outre que Thomsen utilisant uniquement cette coloration chez *Calliphora erythrocephala*, et ayant observé cette variabilité dans l'intensité de la coloration violette des flaques de neurosécrétion, suggère qu'il n'existerait qu'une seule catégorie cellulaire dans la *pars intercerebralis* de cette espèce.

Les *cellules B* au nombre de 16 en moyenne; elles sont situées au-dessous des cellules A ou intercalées entre les cellules neurosécrétrices A les moins superficielles. Elles se distinguent des premières par leur plus grande taille. Leur noyau paraît ovoïde mais examiné aux plus forts grossissements, ses contours deviennent moins réguliers. Leur cytoplasme, plus abondant que celui des cellules A est fortement phloxinophile. On y distingue des plages acidophiles colorables en violet pâle à la fuchsine paraldéhyde, incluses dans une substance intercalaire basophile très pyroninophile. Ces plages, correspondent au matériel neurosécrété, prennent avec intensité le picro-indigo-carmin en se colorant en vert bleu, et ne possèdent pas un aspect rugueux comme dans les cellules neurosécrétrices A, mais sont de contenu plus uniforme.

Source : MNHN, Paris

A. GIRARDIE et J. GIRARDIE (1967) signalent dans les cellules neurosécrétrices de *Locusta* l'existence de grains denses fuchsinophiles, distincts du matériel neurosécrété, et qu'ils identifient à des lipofuchsines. Après coloration à l'azan, nous observons des granulations fuchsinophiles rares et dispersées dans les neurones gésnts, mais pas dans les cellules neurosécrétrices de type A ou B. Les plages de neurosécrétion sont très fortement colorables à l'azocarmin, aussi bien dans les cellules neurosécrétrices A que B.

Les *cellules C.* Ces éléments sont plus difficiles à mettre en évidence que les précédents. Leurs caractères histologiques paraissent d'ailleurs plus variables selon les familles d'insectes. Contrairement aux observations de JOHANSSON, chez *Oncopeltus*, et à celles de GIRARDIE chez *Locusta*, où leur taille est supérieure à celle des autres cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*, nous constatons chez la mouche domestique qu'elles sont de dimensions assez variable mais n'excèdant jamais celle des cellules B. Les cellules neurosécrétrices de type C ne sont colorables qu'à l'azan, au picro-indigo-carmin et au poncesu de xylidine; toutefois, elles prennent l'Azan de façon plus pâle que les cellules neurosécrétrices Gomori positives. Leur nombre est nettement moindre; nous en avons dénombré de 3 à 6 avec une localisation moins précise que pour les catégories précédentes, entre lesquelles elles sont dispersées. A l'opposé des cellules C d'*Oncopeltus*, celles de *Musca* ne présentent aucune affinité pour la fuchsine paraldéhyde.

TABLEAU 1. — Caractères histologiques et proportions relatives des différentes cellules neurosécrétrices dans la *pars intercerebralis* de *Musca domestica* L.

Type	Picro-indigo-carmin	Azan	Ponceau de xylidine	Hématoxyline chromique phloxine	Fuschine paraldéhyde	Thionine paraldéhyde	Nombre moyen de CNS	Extrêmes
A	jaune-vert + +	rouge pâle +	+	hématoxyline bleu sombre + + +	+ + +	+ + +	8	8–13
A′	jaune-vert + +	rouge +	+	hématoxyline bleu sombre + + +	+ +	+ +	3–4	
B	vert bleu + + +	rouge +	+	rouge (phloxine)	+	±	16	13–19
C	vert bleu + + +	orange +	+	–	–	–	4?	3–6?

Les neurones géants. Les cellules α sont disposées au-dessous des cellules neurosécrétrices dans la partie profonde de la *pars intercerebralis*. Nous en observons 7 en moyenne, remarquables par leur forte basophilie cytoplasmique qui leur confère des affinités tinctoriales très différentes de celle des cellules neurosécrétrices. Elles ne se colorent ni au réactif de Gomori ni à l'azan. Leur cytoplasme de structure finement granulaire prend toutefois très légèrement une teinte violette sur les préparations surcolorées à la fuchsine paraldéhyde. THOMSEN qui a décrit ces éléments chez *Calliphora* a noté ce même comportement à l'égard de ces colorants. Mais chez la mouche domestique les neurones géants situés dans les parties les plus profondes de la *pars intercerebralis* présentent un cytoplasme d'aspect particulier, pourvu d'espaces réticulés légèrement phloxinophiles. Chez cette espèce, les neurones gésnts ont été observés pour la première fois par GRANDORI,

Source : MNHN, Paris

mais cet auteur ne semble avoir attribué une activité neurosécrétrice qu'aux cellules A (dont il estime le nombre moyen à 12 ou 14, selon les individus) et il paraît avoir confondu les cellules B, dont il ne fait pas mention, avec les neurones géants [1].

2. *Histochimie des cellules neurosécrétrices de la* pars intercerebralis

La pauvreté en DNA du noyau des cellules A et B contraste avec la réaction intense au Feulgen et au vert de méthyle des autres neurones du protocerebron. Par contre, les deux nucléoles de même que le cytoplasme prennent fortement la gallocyanine, la pyronine et le bleu de toluidine tamponné. Cette réaction est particulièrement intense et uniforme dans le cytoplasme des neurones géants. Toutefois, les cellules neurosécrétrices A et C sont plus basophiles que les cellules B [2]. A. Girardie et J. Girardie (1967) ont fait la même observation chez *Locusta* et interprètent par ce fait la phloxinophilie des cellules B. Nous pensons cependant que la phloxinophilie des cellules neurosécrétrices B n'est pas en corrélation directe avec leur moindre basophilie cytoplasmique, comparée à celle des cellules A. Comme nous le mentionnons en bas de page, nous constatons que les zones basophiles sont restreintes aux espaces cytoplasmiques situés entre les flaques de neurosécrétion, lesquelles demeurent absolument incolores dans ces tests. Pipa (1962) a fait une observation similaire chez *Periplaneta* et remarqué une disparition de la basophilie après passage à la ribonucléase, Thomsen (1965) constate aussi une diminution de l'affinité du cytoplasme pour la gallocyanine, après hydrolyse enzymatique du RNA.

Les cellules A de la *pars intercerebralis* de la mouche domestique sont fortement positives aux réactions de détection des groupements sulfhydriles, liés à la cystéine et à la cystine (groupements SH et -S-S); ceci atteste d'une plus grande richesse en ces acides aminés. Leurs granules se colorent en effet intensément en bleu dans les colorations à l'acide performique bleu alcian (Adams et Sloper, 1956) en rose au DDD (Barnett et Seligmann, 1952), en violet pâle au neotetrazolium, en vert au ferrocyanure ferrique, enfin en orangé au RSR. Les cellules B se colorent avec une teinte identique, mais d'intensité plus faible, avec ces divers réactifs.

Depuis les travaux d'Adams et Sloper (1956), effectués chez l'homme, le chien et le rat et qui ont abouti à la mise en évidence d'une protéine riche en cystéine-cystine associée aux cellules neurosécrétrices de l'hypothalamus, plusieurs auteurs ont révélé la présence de telles substances dans les cellules neurosécrétrices des invertébrés. Sloper (1957) a réussi les premières détections chez *Periplaneta*, données reprises par Brousse, Idelman et Zagury (1958). Arvy et Gabe (1962) ont observé la présence d'une telle protéine chez plusieurs insectes dont *Calliphora erythrocephala* Meig., Raabe (1965) note aussi l'existence de tels composés détectés au RSR, dans la chaîne nerveuse ventrale de plusieurs insectes de même que Naisse (1966) chez *Lampyris*.

Plusieurs auteurs reprenant les conceptions de Schiebler (1952) ont essayé de démontrer histochimiquement que le matériel neurosécrété est de nature glycolipo-protéique en utilisant le test du PAS : Herlant-Meewis (1956) arrive à cette conclusion chez *Eisenia fœtida* (Ann. Olig.); cependant Bianchi (1963) conclut que l'oligochète *Octoclasium complanatum* renferme essentiellement dans ses cellules neurosécrétrices une protéine ou un polypeptide PAS négatif. Plus récemment A. Girardie et J. Girardie (1967) signalent dans les cellules A de *Locusta* des grains PAS positifs qui ne correspondent que partiellement aux lipopigments de type lipofuchsines, car certains d'entre eux se colorent aussi au bleu de toluidine, et auxquels ces derniers auteurs attribuent une nature protéique, sans toutefois préciser s'il s'agit d'enclaves liées à une activité neurosécrétrice.

1. Les neurones géants ont été signalés par plusieurs auteurs chez les insectes. Nous citerons les observateurs de Rehm (1955) dans la *pars intercerebralis* de *Galleria* et d'*Ephestia*, celles de Highnam (1961) chez *Schistocerca*, de Wiley et Chapmann (1962) chez *Blabera*, de A. et J. Girardie (1967) chez *Locusta*, et de Thomsen (1965) chez *Calliphora*.

2. Chez les Oligochètes (*Eisenia fœtida*) Herlant-Meewis a toutefois signalé un passage de l'acidophilie à la basophilie du matériel neurosécrété, au cours du cycle secrétoire des cellules neurosécrétrices. Par ailleurs, Strambi (1967) a observé chez *Polistes* des grains de sécrétions acidophiles et basophiles coexistant dans le cytoplasme d'une même cellule neurosécrétrice, fait également signalé par M. Thomsen (1954) chez d'autres Hyménoptères.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU II. — Caractères histochimiques des cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis* de *Musca domestica*

Réactiens pratiquées	Couleur et (ou) intensité de la réaction des différentes catégories de cellules neurosecrétrices			
	Catégories des cellules neurosecrétrices			
	A	B	C	Neurones géants
Acides nucléiques dn noyau				
Feulgen (neyau) [1]	−	−	−	−
Vert de méthyle-pyronine (cytoplasme)	rouge + + +	rouge + + +	reuge + + +	rouge + + + +
Gallocyanine (cytoplasme)	bleu noir +	bleu noir +	bleu noir +	blen noir +
Bleu de teluidine pH 4,6 (cyteplasme)	bleu violet +	bleu vielet +	bleu vielet +	bleu violet + +
Protéines (produits de neuro-sécrétion)				
Réaction de Salazar (signalétique)	noir + +	neir + +	noir + +	neir + +
Ferrocyanure Fe + + + (CHEVREMONT & FRÉDÉRIC, 1943)	vert sombre + + + +	vert pâle + + +	vert pâle + +	±
Acide performique–bleu Alcian (ADAMS et SLOPER, 1956)	bleu + + +	bleu + +	blen −	blen −
Bleu Victeria (TANDAN et DOGRA, 1964)	+ + +	+	−	−
R–S–R	erangé + + +	erangé +	−	−
Blen de uéotétrazolium	rose violacé + + +	rose vielacé + +	rose violacé ±	±
DDD (BARNETT et SELIGMANN, 1952)	rose + + + +	rose + + +	rose ±	±
Réactien argentaffine (acides aminés à fenction phénel)	−	−	−	−
Lipides complexes				
« Luxal Fast Blue » (Phospholipides)	bleu + +	bleu + +	bleu + +	bleu +
Noir Soudan	+	+	+	±
Polysaccharides	−	−	−	−
PAS (cyteplasme)	±	±	±	±
Réactien métschromatique au bleu de teluidine	−	−	−	−

1. On eberve cependant un petit caryesome Feulgen + et colerable au vert de méthyle.

Source : MNHN, Paris

Les tests du PAS montrent sur notre matériel que le cytoplasme des neurones de la *pars intercerebralis* et des régions adjacentes prennent une légère teinte rose sans localisation nette au niveau des flaques de neurosécrétion, mais plutôt de façon diffuse et uniforme.

La réaction argentaffine s'est avérée négative ce qui démontre que le produit sécrété n'est pas du groupe des catécholamines.

Les tests de détection des phospholipides (noir Soudan et « Luxal Fast blue ») effectués après fixation au Helly révèlent la présence de flaques assez fortement colorables qui occupent le même emplacement que les zones Gomori positives. En outre, après coloration au « Luxal Fast blue » s'observent quelques petits granules très chromophiles qui correspondent probablement aux lysosomes pigments. PIPA (1962) a décrit chez *Periplaneta* des granules très soudanophiles (granules δ) non seulement dans les cellules neurosécrétrices, mais dans tous les neurones de cet insecte, qu'il identifie effectivement à des lipofuchsines, lipides insaturés encore dénommés chromolipoïdes. Nous identifions à ces derniers les granules fortement colorables au « Luxal Fast blue » des cellules neurosécrétrices de *Musca* et nous pensons que leur affinité pour ce colorant, en accord avec ce qu'il a été démontré histochimiquement sur d'autres matériels, est l'indication d'une richesse de ces inclusions en phospholipides. TAXI (1965) arrive à ces conclusions sur les lysosomes pigments des neurones ganglionnaires de *Rana*, de même que GIRARDIE pour les cellules neurosécrétrices de *Locusta*. L'intense activité phospbatasique acide de ces inclusions, mises en évidence par ces auteurs, confirme l'appartenance de telles inclusions au groupe des lysosomes.

En conclusion le matériel colorable par la réaction de Gomori, contenu dans les cellules neurosécrétrices A et à une concentration moindre dans les cellules neurosécrétrices B, est une lipoprotéine riche en cystéine-cystine. De nouveaux tests des protéines s'imposent pour déceler d'autres amino-acides liés à des substances neurohumorales, comme le tryptophane dont la présence a déjà été remarquée chez d'autres insectes (cf. par exemple les recherches de BUSSELET [1967] sur la présence d'une protéine riche en radicaux indole dans les terminaisons allates des axones de la *pars intercerebralis* et les prolongements des cellules parenchymateuses cardiaques de *Rhodnius* et d'*Antheraea*).

Nature biochimique du matériel neurosécrété.

Malgré les nombreuses recherches histochimiques ayant eu pour but d'identifier les neurohormones protocérébrales, leur nature demeure aujourd'hui encore hypothétique. Un point semble cependant acquis : les réactions signalétiques comme celles de Gomori, les méthodes de détection des acides aminés soufrés, les réactions des lipides complexes (test de Baker, « Luxal Fast blue », Ciaccio etc.) ne révèlent pas les neurohormones, mais une substance de nature protéique ou un polypeptide riche en cystéine-cystine et probablement lié sous forme de cénapse à un phospbolipide. Cette lipoprotéine interviendrait soit dans la synthèse — en tant que précurseur de la neurohormone (la protéine « mère » de GABE (1960) —, soit comme vecteur ou substance de transfert du produit élaboré (« Tragerprotein » des auteurs allemands).

Il faut malgré tout dire qu'à la suite des travaux d'ICHIKAWA et ISHIZAKI (1963) il semble que le ou les neurobormones protocérébrales sont hydrosolubles et de nature protéique : elles ne dialysent pas, reprécipitent par l'acétone et voient leur activité diminuer beaucoup sous l'effet des enzymes protéolytiques. Parallèlement aux travaux de ces auteurs, KOBAYASHI et YAMASAKI ont démontré la présence d'une neurohormone différente dans le cerveau de *Bombyx* qui serait de nature lipoprotéique et constituée par un stérol associé à une protéine indéterminée (1960).

3. *Variation d'activité des cellules neurosécrétrices en fonction de l'âge*

Dans le but de déceler des indices histologiques permettant de mettre en corrélation l'activité des cellules neurosécrétrices avec certains phénomènes physiologiques se déroulant au début de la vie imaginale, nous avons étudié la variation d'activité de ces cellules en se basant sur les résultats des colorations de Gomori à l'bématoxyline chromique et à la fucbsine paraldéhyde. En particulier, nous avons dénombré, après coloration au Gomori) les diverses catégories de cellules neurosécrétrices dans des coupes sériées effectuées sur 50 cerveaux de mouches d'âge connu, compris entre 24 beures et 25 jours. Nous avons également étudié, sans toutefois effectuer une numération des cellules neurosécrétrices des cervesux de nymphes âgées, de mouches venant d'éclore et de femelles âgées de 6 heures. Enfin des numérations des cellules neurosécrétrices ont été établies sur une vingtaine de cervesux de mouches d'âge divers, colorés à la fuchsine paraldéhyde, et sur 12 cerveaux colorés à l'azan.

Source : MNHN, Paris

Résultats des études après coloration à l'hématoxyline chromique-phloxine.

Les données numériques consignées dans les tableaux III et IV concernent des lots de mouches d'âge croissant, de 24 heures à 25 jours. Chez les individus plus jeunes, les cellules A ne sont pas dénombrables avec certitude car elles prennent très faiblement l'hématoxyline chromique sous l'aspect de grains très fins et isolés. Nous n'avons pu mettre en évidence de cellules A dans la *pars intercerebralis* de nymphes phanérocéphales âgées, GRANDORI signale chez celles-ci des cellules A deutocérébrales qui deviendraient phloxinophiles à l'émergence, nous n'avons point observé de tels éléments sur le matériel que nous avons étudié. Chez les mouches nouveaux-nées ou âgées de 6 heures nous avons pu dénombrer jusqu'à 6 cellules neurosécrétrices présentant une certaine coloration bleue dans leur cytoplasme, cellules localisées dans les parties latérales de la *pars intercerebralis*, mais l'bématoxylinophilie de tels éléments est alors très faible.

A partir de 24 heures après l'éclosion, les neurosécrétions des cellules neurosécrétrices A et B deviennent bien visibles et les numérations peuvent être effectuées sans risque de confusion.

La méthode de dénombrement utilisée consiste à dessiner à la chambre claire (objectif X 100 Wild) sur des feuilles de papier transparent — ce qui permet ensuite de les superposer — chacune des cellules neurosécrétrices visibles sur les diverses coupes frontales d'un cerveau (coupes d'épaisseur de 5 μ). Dans ces conditions on peut effectuer rigoureusement de telles numérations sans possibilité de compter deux fois le même neurone. La variabilité du nombre de cellules neurosécrétrices de chaque type que nous avons observée ne provient pas d'erreurs de comptage mais bien de la variabilité individuelle inhérente à l'espèce. Rappelons que THOMSEN (1965) considère dans ses dénombrements, effectués en comptant les nucléoles, qu'il ne peut attribuer avec certitude à des écarts individuels la variabilité des résultats obtenus chez *Calliphora*.

Nous avons analysé l'homogénéité des résultats par la méthode du χ^2. Dans le cas du problème que nous étudions, la technique statistique utilisée est la suivante : soit i le nombre de colonnes correspondant aux diverses catégories de cellules neurosécrétrices : ici 3 (celle des cellules neurosécrétrices A, celle des B et celle des cellules neurosécrétrices Gomori négatives). Le χ^2 est dans ce cas déterminé par la formule :

$$\chi^2 = \sum_{ji} \left(n_{ij} - \frac{n_{oj}\, n_{io}}{N} \right)^2$$

ou N représente le nombre total de cellules, n_{ij} le nombre de cellules d'âge j et de type i, n_{io} le nombre total de cellules de type i et n_{oj} le nombre total de cellules correspondant à une ligne d'âge j. Par ailleurs le nombre de degrés de liberté du χ^2 est donné par l'expression :

$$N = (i-1)\,(j-1) \quad \text{soit} \quad (3-1)\,(7-1) = 12$$

Le calcul nous a montré que le χ^2 avait dans le cas étudié une valeur de 3,02 alors que pour 12 degrés de liberté, sa valeur limite est de 21,03. Ceci prouve la grande homogénéité de nos résultats numériques concernant la proportion relative de chaque catégorie cellulaire à chaque âge, ce qui nous conduit à conclure que les variations observées sont aléatoires et ne peuvent être rapportées à la possibilité du passage d'un type cellulaire à l'autre.

Contrairement aux conclusions de GRANDORI, qui ne croit déceler à l'bématoxyline chromique une activité neurosécrétrice que vers le 6e jour, nous avons observé que les cellules neurosécrétrices A commencent à devenir colorables dès l'émergence, bien que la charge ne soit appréciable qu'après 24 heures.

La colorabilité des cellules neurosécrétrices à l'hématoxyline chromique-phloxine varie beaucoup dans la première semaine de la vie imaginale, pendant laquelle leur cytoplasme se charge progressivement. Mais à partir du 7e jour, la coloration ne varie plus et l'intensité de cette dernière est à peu près comparable entre les cerveaux de mouches âgées d'une semaine ou de 25 jours.

Les granulations hématoxylinophiles et les mottes phloxinophiles, isolées chez les mouches jeunes, deviennent confluentes et occupent progressivement l'ensemble du cytoplasme entre le 4e et le 7e jour de la vie imaginale; elles laissent cependant des espaces interstitiels réticulés qui présentent, nous l'avons déjà souligné, une certaine basophilie. Dans le cerveau des mouches âgées de plus de 7 jours, les corps cellulaires des cellules neurosécrétrices A et B sont très chromophiles et fortement chargés en matériel Gomori positif. A la suite de LEA et THOMSEN (1962), HIGHNAM (1961), CLARKE et LANGLEY (1962), il est acquis qu'une forte charge du perikaryon en matériel neurosécrété est le reflet, non point d'une forte activité, mais au contraire

Source : MNHN, Paris

TABLEAU III. — Comptage des catégories de CNS après coloration à l'hématoxyline chromique-phloxine

Age (en jours)	Code Numéro de préparation	Hem +	Phl +	Gom −
1	CE 4	12	15	8
	CE 5	12	19	13
	CE 6	10	17	12
	CVE 14	11	16	7
	CVE 19	10	16	10
	CVE 21	9	15	10
	CVE 22	9	17	10
	CVE 23	10	13	13
	CVE 24	13	19	10
	CVE 17	12	18	10
3	CF 1	12	16	9
	CF 2	11	16	10
	CF 3	10	17	7
	CVF 1	12	15	13
	CVF 2	10	16	9
5	DG 4	11	12	10
	DK 5	12	16	9
6	CVG 1	12	15	13
	CVG 3	11	15	9
	CVG 4	10	12	10
	CVG 5	11	13	10
	CVG 15	13	15	12
	CVG 16	13	19	9
	CVG 17	12	15	8
	CVG 19	10	18	11
6	CVG 20	11	14	8
	CVG 21	12	19	11
	CVG 22	12	19	8
	CVG 23	13	18	10
	CG 2	11	17	11
	CG 3	12	18	12
9	CVH 2	11	13	8
	CVH 6	12	17	9
	CVH 10	12	15	12
	CVH 12	11	16	10
	CH 1	13	17	9
	CH 2	12	17	9
18	EG 1	12	15	11
	EG 2	12	14	11
	EG 3	12	14	12
	EG 4	11	14	11
	EG 5	12	15	10
	EG 6	11	14	12
	EG 9	11	16	10
	EG 10	12	14	12
	DN 6	10	14	9
25	CJ 1	10	19	11
	CVJ 5	12	15	9
	CVJ 7	12	15	12
	CVJ 12	9	15	7

d'un défaut d'évacuation des produits élaborés. Rappelons aussi que DE ROBERTIS et ses coll. (1960 et suivantes) ont suggéré que les matières neuroactives n'étaient que partiellement élaborées au niveau du perikaryon et que leur synthèse continuait au cours du trajet axonique où elles subissent tout au moins une maturation. THOMSEN (1965) souligne à juste titre l'aspect chargé des cellules neurosécrétrices prenant la fuchsine paraldéhyde, dans les cerveaux de femelles nourries seulement de sucre et d'eau, régime qui ne permet pas la maturation des œufs chez *Calliphora*. De nombreuses recherches ont mis en évidence l'influence des neurohormones protocérébrales sur la vitellogénèse; parmi ces dernières, citons celles de THOMSEN (1948, 1952 et suivantes), STRANGWAY-DIXON (1962), HIGHNAM (1962), HILL (1962), STRONG (1965), MORDUE (1965), SIEW (1965), GIRARDIE (1966) et O'LIE (1967). Plus récemment, POSSOMPES et coll. (1967) ont montré, par une étude histophysiologique chez *Sarcophaga*, une corrélation entre la charge des cellules neurosécrétrices et la maturation des ovocytes.

Nous observons aussi chez la mouche domestique une telle corrélation entre la charge progressive des cellules neurosécrétrices et la maturation des ovocytes dans les follicules arrivant à maturité au cours du premier cycle gonotrophique, la première ponte ayant lieu au 5e ou au 6e jour à la température de 25 °C.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU IV. — Résultats de l'analyse statistique effectuée après dénombrement des diverses catégories cellulaires dans 50 cerveaux de Mouches colorées au Gomori (tableau III)

Age	Nombre de cerveaux	Total de cellules (dont les α)		Répartition par catégories					
				A (Hématoxylinophiles)		B (Phloxinophiles)		Gomori — [1]	
		Moyenne	Écart type	Moyenne	Écart type	Moyenne	Écart type	Moyenne	Écart type
24 heures	10	37,60	3,47	10,80	1,40	16,50	1,90	10,30	1,94
3 jours.....	5	36,60	2,30	11,00	1,00	16,00	0,70	9,60	2,49
5 jours.....	2	35,00	2,83	11,50	0,71	14,00	2,83	9,50	1,38
6 jours.....	14	38,00	3,46	11,64	1,01	16,32	2,55	10,14	1,60
9 jours.....	6	37,16	2,64	11,83	0,75	15,83	1,60	9,50	1,38
18 jours.....	9	36,78	1,56	11,44	0,73	14,44	0,73	10,89	1,05
25 jours.....	4	36,50	4,04	10,75	1,50	16,00	2,00	9,75	2,217
Totaux	50	37,22	2,94	11,32	1,07	15,78	1,89	10,12	1,61

1. Les résultats numériques relatifs aux cellules Gomori négatives expriment le total cellules C plus neurones géants. La distinction de ces deux types est impossible après coloration à l'hématoxyline chromique-phloxine puisque leur cytoplasme ne présente pas d'affinité pour ces colorants. En outre, les cellules C sont de taille équivalente aux plus petits des neurones géants.

Un autre fait important que nous avons observé réside dans la variation de colorabilité des cellules neurosécrétrices cérébrales situées en dehors de la *pars intercerebralis*, en particulier dans le cortex du lobe latéral et dans la région périoesophagienne. FRAENKEL et HSIAO (1966) ont tenté de mettre en évidence la catégorie cellulaire qui synthétise éventuellement le Bursicon dans le système nerveux central de *Phormia regina* Meig. FRAENKEL (1962) a en effet montré que le durcissement du tégument au moment de la mue imaginale est conditionné par une neurohormone élaborée dans le cerveau qu'il a dénommé Bursicon : en effet, la ligature de la tête à des adultes sortis depuis moins de 2 minutes du puparium interdit le tannage du tégument. Les cellules neurosécrétrices qui élaborent ces neurohormones sont encore énigmatiques. HSIAO et FRAENKEL (1966) n'ont pas réussi à les mettre en évidence. J. THERRY [1] dans un travail non publié a observé de fortes variations de colorabilité à l'azan dans les cellules médianes et dorsales de la *pars intercerebralis* et dans les cellules latérodorsales du ganglion sous-œsophagien, dans les heures qui suivent la sortie du puparium.

Chez la mouche domestique ce sont surtout les cellules neurosécrétrices extérieures à la *pars intercerebralis* qui montrent d'importantes variations de charge dans les heures qui suivent l'émergence.

La question de la multiplicité des types cellulaires demeure encore énigmatique, certains auteurs ont avancé que les variations de colorabilité observées dans les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*

1. J. THERRY, *Recherches sur la neurosécrétion dans l'ensemble du système nerveux central au moment de l'éclosion et au début de la vie imaginale chez* Sarcophaga argyrostoma *R.D.* (*Diptère*), D.E.S. soutenu le 3 février 1967, Fac. Sc. Paris.

Source : MNHN, Paris

et de la chaîne nerveuse ventrale ne témoignent pas de l'existence de plusieurs catégories distinctes mais ne représentent que des stades successifs d'une même type cellulaire à diverses phases de son cycle sécrétoire : telle semble être l'opinion de LHOSTE (1953) d'après ses observations chez *Forficula* et celles de NAYAR (1955) chez *Iphita*, et de FRASER (1959) pour le cerveau larvaire de *Lucilia*. THOMSEN conclut de son étude sur la *pars intercerebralis* de *Calliphora* qu'aucune preuve convaincante de l'existence de plus d'un type de cellules neurosécrétrices ne peut être avancée. Plus récemment, cette opinion a été partagée par HSIAO et FRAENKEL pour *Phormia regina* meig. et par RENSING en ce qui concerne *Drosophila melanogaster*. Enfin, STRAMBI (1966) observe d'importantes variations de charge dans la *pars intercerebralis* de *Polistes* au cours du printemps et que les diverses catégories qu'il distingue correspondraient aux divers stades secrétoires d'un même type cellulaire (communication orale).

A. GIRARDIE et J. GIRARDIE (1967) quoique moins catégoriques suggèrent qu'il se produirait une transformation des cellules B en cellules A chez *Locusta*. Ils ont constaté entre l'adulte immature et celui parvenu à maturité une variation dans la proportion relative des cellules B et des cellules A, les premières diminuant de nombre avec l'âge tandis que les autres deviennent plus nombreuses. Quoique faible, la différence observée serait significative selon ces auteurs.

A l'opposé des opinions précédentes, d'autres auteurs considèrent qu'il existe une réelle multiplicité des types cellulaires : HIGHNAM (1961), RAABE (1964, 1965), HERMANN et GILBERT (1965), KOPF (1967) partagent ce point de vue. HIGHNAM a d'ailleurs observé chez *Schistocera* la présence simultanée, dans les axones des cellules neurosécrétrices se rendant aux *corpora cardiaca*, de matériel hematoxylinophile et phloxinophile. RAABE considère aussi qu'il y a une spécialisation fonctionnelle dans les cellules neurosécrétrices de la chaîne nerveuse ventrale des phasmides.

Nous croyons que les différents types de cellules neurosécrétrices mis en évidence par les techniques histologiques ou histochimiques correspondent bien à des catégories distinctes dans la plupart des cas. La grande diversité des neurohormones synthétisées par le cerveau qui conditionnent entre autre la protéinhémie, la croissance, le tannage du tégument lors de la mue imaginale, la diurèse etc. rend improbable l'hypothèse d'une élaboration de ces composés par un seul type cellulaire non spécialisé.

Certaines de nos observations personnelles vont dans le sens d'une telle conception :

1° Nous avons constaté qu'il n'y a pas de variation significative dans la proportion relative des diverses catégories de cellules neurosécrétrices Gomori + au cours du vieillissement : certaines cellules se chargent progressivement de produits colorables à l'hématoxyline chromique ou à la phloxine, dans la première semaine de la vie imaginale; mais ce phénomène s'accomplit sans interrelation avec les deux catégories ainsi mises en évidence. En outre, le test du χ^2 calculé à partir du tableau III montre une grande homogénéité dans les résultats obtenus : il y a une remarquable constance dans la proportion relative des divers types de cellules de la *pars intercerebralis*, même si l'on compare les classes d'âge extrêmes que nous avons étudiées (24 heures et 25 jours). Le χ^2 calculé à partir des données numériques du tableau III est de 3,02 alors que sa valeur limite est de 21,03 pour nn seuil de probabilité de 0,95 dans le cas de 12 degrés de liberté. Ceci témoigne de la grande constance dans la proportion des diverses catégories de cellules neurosécrétrices quel que soit l'âge des individus ;

2° Au point de vue morphologique, nous constatons que les cellules neurnsécrétrices A, A' et B, ainsi que les neurones géants, occupent une position sensiblement constante dans le cervcau et que leurs affinités tinctoriales restent sensiblement identiques quel que soit l'âge des insectes. Un tel fait ne devrait pas avoir lieu si ces diverses cellules correspondaient en réalité à un seul type avec passage d'une catégorie à l'autre au cours de la vie imaginale.

C. RÉPARTITION DES CELLULES NEUROSÉCRÉTRICES DANS LES DIVERSES RÉGIONS CÉRÉBRALES DE *MUSCA DOMESTICA* L.

Les quelques données bibliographiques relatives à la présence de cellules neurosécrétrices dans d'autres régions que la *pars intercerebralis* chez les diptères supérieurs, mettent en évidence une grande diversité dans le nombre et l'emplacement de ces cellules chez les insectes étudiés. KOPF (1957) et RENSING (1966) distinguent respectivement 3 et 5 groupes de cellules neurosécrétrices dans le cerveau des Drosophiles, les plus nombreuses se situant dans la *pars intercerebralis*, où ces auteurs discernent de 24 à 32 cellules neuro-

Source : MNHN, Paris

sécrétrices. Par ailleurs, ils signalent deux paires latérodorsales, 4 paires latérales à la limite des lobes optiques, 3 groupes de cellules neurosécrétrices sous-œsophagiennes, le premier de 12 à 16 éléments, situé à la base du nerf pharyngien, 4 à la base du nerf labial et deux grandes cellules tout à fait postérieures.

THOMSEN (1965) décrit chez *Calliphora*, après coloration à la fuchsine paraldéhyde, 16 à 27 cellules médianes dans la *pars intercerebralis* avec un nombre moyen de 24 à 26; deux groupes de cellules latérales à la partie latérosupérieure du protocérébron; une ou deux paires de cellules neurosécrétrices phloxinophiles

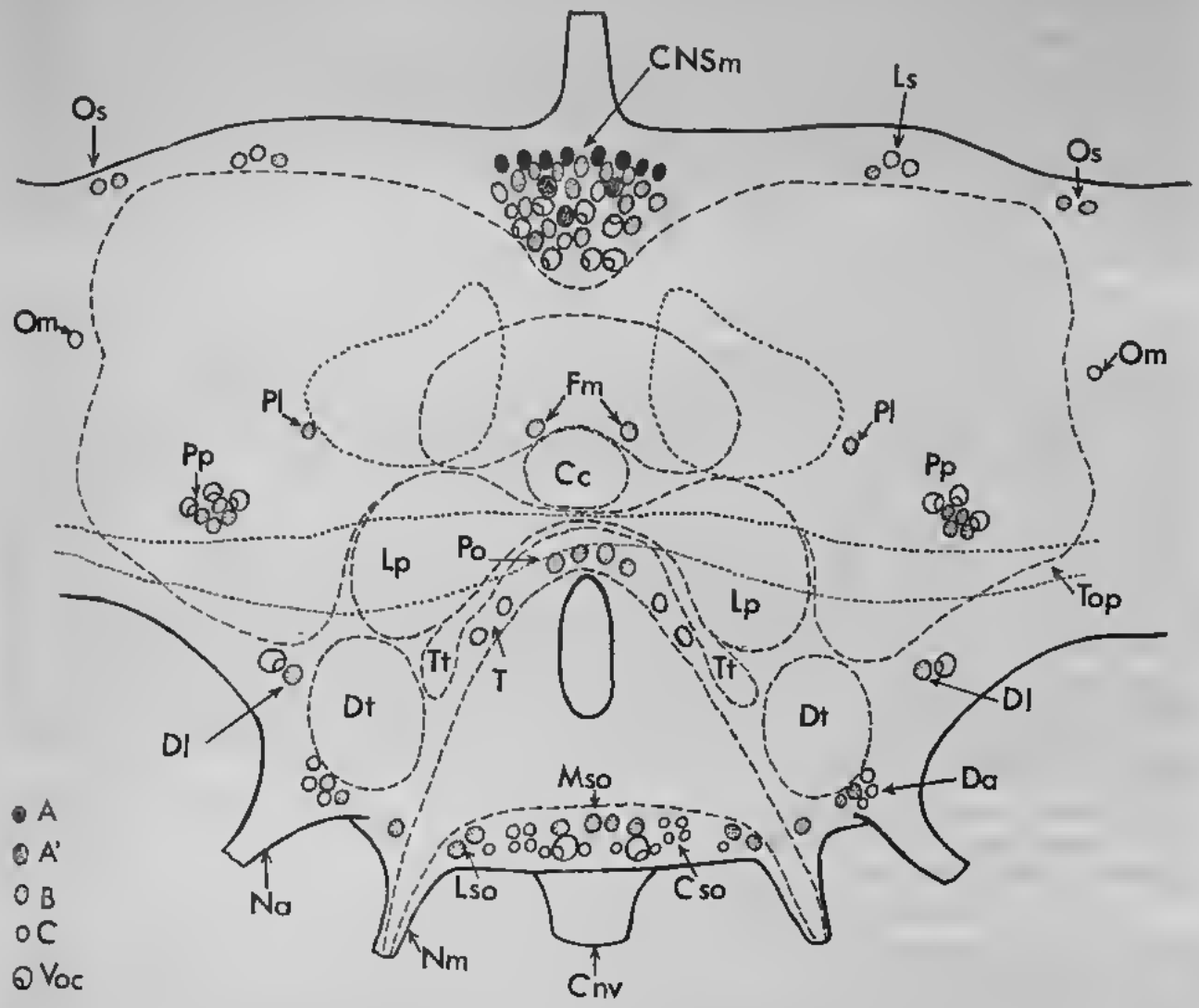


FIG. 3. — Schéma figurant la répartition des principaux groupes de cellules neurosécrétrices dans l'ensemble de la masse nerveuse céphalique chez la monche domestique. Outre les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*, on observe un nombre important de tels éléments dans le cortex du ganglion sous-œsophagien; dans la région péri-œsophagienne ainsi que dans la partie postéroventrale du protocérébron. Les cellules neurosécrétrices de type A ne se rencontrent que dans la *pars intercerebralis* chez *Musca domestica*.

Cc, corps central; CNsm, cellules neurosécrétrices médianes; Cnv, chaîne nerveuse ventrale; CSO, cellules neurosécrétrices de type C sous-œsophagienne; Da, cellules neurosécrétrices deutocérébrales antérieures; Dl, cellules deutocérébrales latérales; Dt, glomérule deutocérébral = glomérule antennaire; Lp, lobe protocérébral; Ls, cellules latérosupérieures; Lso, cellules B latérales sous-œsophagiennes; Mso, cellules B médianes sous-œsophagiennes; Na, nerf antennaire; Nm, nerf maxillaire; Om, cellules optiques médiance: Pl, cellules protocérébrales latérales; Po, cellules périœsophagiennes; Pp, cellules protocérébrales latéropostérieures; T, cellules C tritocérébrales; Top, tractus optique : Tt, glomérule tritocérébral? Vac, cellules vacuolaires.

existeraient aussi à la limite du cerveau et des lobes optiques deux paires de cellules neurosécrétrices latéroventrales, à la partie postérieure du cerveau et deux autres éléments PF + à la base du ganglion sous-œsophagien.

Source : MNHN, Paris

Hsiao et Fraenkel (1966) ont observé chez *Phormia* de 16 à 22 cellules A dans la *pars intercerebralis* (il n'y aurait donc aucun autre type cellulaire dans la *pars intercerebralis* selon ces auteurs), par ailleurs ils décrivent une paire de cellules A frontales, un groupe postéro-médian avec une paire de cellules A et un second groupe de 8 cellules du même type situé plus bas, à la limite du foramen œsophagien. Ces auteurs ont aussi observé 3 paires de cellules A latérales et 3 paires de cellules neurosécrétrices B phloxinophiles latéroventrales; le ganglion sous-œsophagien comporte 4 cellules B et 2 cellules A. Nous ne partageons pas l'opinion de ces derniers auteurs qui écrivent que l'examen de cerveaux de mouches domestiques leur a montré une disposition analogue des diverses cellules neurosécrétrices : la *pars intercerebralis* de *Musca* renferme en tout 30 cellules neurosécrétrices dont 11 A, 16 B et 3 C (en moyenne). Nous ne rencontrons aucune cellule neurosécrétrice A dans d'autres régions cérébrales, à la différence des observations de Hsiao et Fraenkel. On remarque dans le protocérébron plusieurs autres groupes de cellules neurosécrétrices (fig. 3); dans chaque hémisphère nous distinguons 3 cellules latérosupérieures dont une de type B, les autres de type C; une ou deux cellules neurosécrétrices B que nous dénommons cellules neurosécrétrices optiques supérieures, car situées à la limite du neuropile protocérébral et des lobes optiques et une cellule neurosécrétrice C optique médiane située en position analogue à celle des « Laterale A-Zellen » décrites par Kopf chez *Drosophila*.

Un peu au-dessous de la *pars intercerebralis* et dans la région antérieure du protocérébron existe une cellule neurosécrétrice B frontale médiane; en outre dans la région corticale sise au-dessous des calices antérieurs des *corpora pedunculata*, existent une ou deux cellules neurosécrétrices B frontales latérales. Dans la région postérieure du protocérébron s'observe un groupe de 4 cellules B qui correspond probablement au groupe de cellules dénommées PNC II par Hsiao et Fraenkel. Dans un cas (sur près de 100 cerveaux examinés) nous avons observé deux cellules neurosécrétrices situées en arrière du nerf ocellaire et qui correspondent peut-être aux cellules A du groupe PNC I décrit par ces mêmes auteurs (cf. fig. 1).

A la limite du protocérébron et de la région corticale deutocérébrale existent 1 ou 2 cellules B de grande taille; en outre, 4 grandes cellules neurosécrétrices B [1] et 4 cellules neurosécrétrices C de taille plus faible se rencontrent dans le cortex periœsophagien dans la région antérieure du cerveau. Les premiers de ces éléments correspondent sans doute aux cellules neurosécrétrices deutocérébrales de Grandori, nous préférons désigner temporairement ces dernières sous le terme de périœsophagiennes. Les cellules C, situées dans cette région sont peut-être tritocérébrale. Il existe à notre avis un groupe de cellules neurosécrétrices deutocérébrales antérieures. Celles-ci semblent être jusqu'alors passées inspercues; elles sont situées dans la partie tout à fait antérieure du cervesu au niveau de la racine du nerf antennaire : nous distinguons au moins 3 cellules neurosécrétrices B et 4 cellules neurosécrétrices C à cet emplacement [2].

Le ganglion sous-œsophagien possède de nombreuses cellules neurosécrétrices. Nous y observons 2 ou 3 paires de grandes cellules B, latérales, une ou deux paires de cellules neurosécrétrices centrales plus petites et une dizaine de cellules C, médianes.

Une étude plus approfondie s'impose pour préciser le nombre et les variations d'activité de ces divers groupes de cellules neurosécrétrices. Nous décrivons ci-dessus deux groupes qui ne semblent pas avoir été signalés jusqu'alors (deutocérébrales antérieures et frontales latérales); de plus les périœsophagiennes n'ont pas été étudiées en détail : Grandori se borne à mentionner dans sa publication, qu'il existe des cellules deutocérébrales. Le schéma très sommaire qu'il en donne nous permet de les identifier avec les cellules neurosécrétrices B périœsophagienne, ces cellules hématoxylinophiles selon cet auteur donc de type A au cours de la vie nymphale, deviendraient phloxinophiles à l'éclosion.

Nous observons aussi des variations de, colorabilité selon l'âge et nous constatons que certains de ces éléments PF + deviennent PF ++ chez les insectes plus âgés ou inversement mais, répétons-le, la description que nous donnons ici de l'ensemble des cellules neurosécrétrices du cerveau est préliminaire et nécessite de nouvelles recherches plus précises.

1. Ces éléments correspondent respectivement aux cellules tritocérébrales médianes et latérales décrites par Thery chez *Sarcophaga*.

2. Toutefois nous n'avons pas observé la présence constante de ces éléments dans tous les cerveaux examinés et leur affinité pour la fuchsine paraldéhyde et l'azan est plus faible que d'ordinaire si bien qu'un doute subsiste à leur égard.

Source : MNHN, Paris

D. LES CELLULES VACUOLAIRES

Ces éléments paraissent fréquents dans le cerveau des Diptères supérieurs. Chez *Calliphora*, GRANDORI (1955) puis ARVY et GABE (1962) [1] ont publié des microphotographies où de telles cellules sont très apparentes, mais c'est à THOMSEN (1965) que revient le mérite de les avoir décrites chez cette espèce. Dans sa publication, cet auteur insiste, sur la grande constance avec laquelle les cellules vacuolaires s'observent chez *Calliphora*, sur leur forte basophilie cytoplasmique (BLOCH et THOMSEN, 1966) ainsi que sur leurs rapports étroits avec les cellules neurosécrétrices médianes.

On rencontre dans le cortex cérébral de la mouche domestique [2], plus particulièrement dans la *pars intercerebralis*, un certain nombre de telles cellules caractérisées par la présence de grandes vacuoles cytoplasmiques. La taille et le nombre de ces vacuoles subissent de fortes variations au cours de la vie imaginale inapparentes chez les adultes nouveau-nés, elles s'accroissent tandis que leur nombre diminue au fur et à mesure que l'insecte vieillit. En outre, ces cellules vacuolaires (cf. fig. 3) ne s'observent que dans les zones cérébrales où existent des cellules neurosécrétrices avec lesquelles elles sont toujours en contiguïté.

IV. ULTRASTRUCTURE DE LA *PARS INTERCEREBRALIS*

L'examen en microscopie électronique de coupes ultrafines de la *pars intercerebralis* montre que les divers neurocytes qui la constituent renferment en général dans leur perikaryon un très grand nombre de grains denses, ayant un diamètre de 750 à 3 500 A et renfermant un matériel fortement osmiophile.

La présence de granulations à cœur osmiophile a été décrite pour la première fois par PALAY (1955) dans la neurohypophyse du rat. Depuis, de nombreuses publications ont révélé leur existence dans les organes neurosécréteurs des insectes (cf. en particulier MEYER et PFLUGFELDER (1958); STIENNON et DROCHMANS (1961), NISHIITSUJI-UWO (1959, 1961), BERN et coll. (1961) WILEY et CHAPMANN (1962), SCHARRER (1961 et suivantes), BLOCH et all. (1965), GIRARDIE (1966, 1967). Cependant, le double problème des critères permettant l'identification des cellules neurosécrétrices et de leur répartition en catégories distinctes, ne peut être considéré comme résolu par la microscopie électronique, car on a décrit des grains denses dans divers neurones dépourvus de propriétés neurosécrétrices tant chez les Vertébrés que chez les Invertébrés.

Chez la mouche domestique, les neurones de la *pars intercerebralis* se répartissent en deux groupes quant à leur ultrastructure. Le premier, le plus nombreux, se caractérise par la grande abondance de grains denses de taille égale ou supérieure à 1 000 A, généralement de l'ordre de 2 500 A, il correspond aux cellules neurosécrétrices telles qu'on peut les reconnaître en microscopie photonique. Le second est constitué par des neurocytes de grande taille; leur cytoplasme est pauvre en grains denses dont la taille est comprise entre 750 et 1 500 Å. Il correspond, sans aucune confusion possible aux neurones géants ou cellules α.

Parmi les cellules neurosécrétrices, nous distinguons 3 catégories dont nous discuterons plus loin l'homologie avec celles décrites dans le chapitre précédent à partir de critères histologiques.

1. Les cellules neurosécrétrices de type I (pl. I, fig. A, B), de taille moyenne par rapport à l'ensemble des éléments cellulaires constituant la *pars intercerebralis*, possèdent un noyau régulier, sphérique, pourvu d'une membrane nucléaire toujours mince et présentant de nombreux pores régulièrement espacés. Leur cytoplasme renferme de nombreux grains élémentaires (= grains denses) de matériel neurosécrété, ayant un diamètre moyen de 2 500 Å.

2. Les cellules neurosécrétrices de type II (pl. II, fig. A et B) de taille légèrement supérieure à celle des précédentes, possèdent un noyau aux contours irréguliers et une membrane nucléaire d'un type tout à fait particulier, épaissie par place en un « cortex » qui, à notre connaissance, n'a encore jamais été observé chez les insectes. Leurs granules élémentaires sont de taille et d'aspect identique à ceux du type I.

3. Les cellules neurosécrétrices de type III (pl. II fig. A, pl. IV, fig. A) moins fréquentes, présentent des dimensions cellulaires plus variables que les autres neurocytes chargés de granules élémentaires; ces derniers sont de taille moindre et mesurent en moyenne 1 500 Å de diamètre.

1. Cependant, ces auteurs ne semblent pas avoir remarqué ces éléments et n'en font pas mention dans leur publication.

2. Pour plus de détail sur ces éléments, on pourra consulter notre publication antérieure aux C.R. Acad. Sc. Paris, t. 266, juin 1968, p. 2367.

Source : MNHN, Paris

Le périkaryon de toutes les cellules neurosécrétrices est entouré d'une membrane cytoplasmique pourvue de nombreux replis dans lesquels les gliocytes envoient des expansions qui pénètrent profondément dans le neuroplasme. Cette interpénétration des neurones et de la glie — si étroite qu'il est parfois difficile de distinguer sur les micrographies électroniques la limite exacte de leurs territoires cytoplasmiques respectifs, certaines invaginations gliales apparaissent en coupes transversales (pl. II, fig. B) pouvant être même de ce fait confondues, au premier abord, avec des inclusions cytoplasmiques des neurocytes — confirme la description faito autrefois par HOLMGREN (1900) du trophospouge.

Le noyau des cellules neurosécrétrices examiné en microscopie électronique présente des aspects fort différents selon le type cellulaire auquel il appartient. Dans les cellules neurosécrétrices I (pl. I, fig. A et B) il est régulièrement ovoïde ou subsphérique et pourvu d'une membrane d'ultrastructure normale, mince et riche en pores nucléaires bien visibles sur les coupes obliques ou tangentielles. Dans les cellules neurosécrétrices II, le noyau est de forme très irrégulière, il présente même parfois un lobe bien individualisé (pl. III, fig. B) qui fait saillie dans le périplasme. La membrane nucléaire de ce type s'épaissit fortement en un cortex atteignant de 750 à 3 500 Å, parfois plus, qui s'estompe par place (pl. II, fig. A et B). Nous avons observé ce cortex dans toutes les *pars intercerebralis* que nous avons examinées en microscopie électronique (une centaine), quel que soit le mode de fixation utilisé (Palade, Millonig avec ou sans préfixation au glutaraldéhyde). De plus son aspect ne varie guère en fonction de la nature du fixateur ou de son pH, quoique son épaisseur tende à s'accroître en milieu hypotonique (immersion des cerveaux dans du Ringer dilué préalablement à la fixation, ou lavage dans une solution de sucrose à trop faible concentration après passage au glutaraldéhyde). D'autre part nous observons côte à côte dans un même cerveau des cellules neurosécrétrices de type I et II ce qui rend très aléatoire l'hypothèse d'un artefact de fixation. On remarque dans ce cortex la présence de vésicules hyalines qui semblent le traverser et faire extrusion dans le cytoplasme; ces aspects correspondent sans aucun doute à une secrétion nucléaire et reflètent l'intense activité métabolique de ces cellules.

Le noyau des cellules neurosécrétrices III est de taille assez variable quoique en général moindre que celle des cellules neurosécrétrices I et II. Leur membrane nucléaire d'aspect classique, présente de nombreux pores bien visibles. L'ensemble du suc nucléaire est plus dense aux électrons que celui des autres cellules neurosécrétrices ce qui donne au noyau de ces neurocytes un aspect grisâtre sur les micrographies électroniques (pl. II A et IV).

Le noyau des cellules neurosécrétrices possède dans tous les cas un nucléole bien développé, osmiophile et un amas de chromatine hétérogène très dense, constituant un faux nucléole et autour duquel s'observent des amas granulaires aux contours irréguliers, très denses aux électrons, qui n'apparaissent que dans les préparations fixées au Millonig (tampon phosphate ou au glutaraldéhyde). NORMANN (1965) a déjà observé de telles structures dans les cellules parenchymateuses des *corpora cardiaca* chez *Calliphora* et considère qu'elles correspondent à des portions de chromosomes interphasiques.

L'ergastoplasme des cellules neurosécrétrices, toujours très développé, est constitué de citernae allongées à la surface desquelles adhèrent des ribosomes. Ces citernae granulaires, réparties sans orientation préférentielles dans le périplasme, se disposent au contraire parallèlement dans les régions périphériques, du périkaryon, où elles constituent des empilements comportant jusqu'à 12 feuillets ergastoplasmiques. Ce type de reticulum endoplasmique semble plus fréquent dans les cellules neurosécrétrices II. Nous avons parfois observé des groupements de citernae disposés en amas spiraliformes autour des mitochondries ou de granules élémentaires de neurosécrétion (pl. III, fig. A). De telles associations ont déjà été décrites par B. SCHARRER (1964) dans les *corpora allata* de *Leucophaea* sous le terme de spires ergastoplasmiques.

L'appareil de Golgi, abondant dans toutes les cellules neurosécrétrices est constitué par des dictyosomes typiques de structure identique à celle que l'on peut observer dans les autres neurones corticaux, non neurosécréteurs (pl. II, fig. B); toutefois, les saccules (ou citernae agranulaires) et les vacuoles sont de plus grande taille. Le nombre de dictyosomes est plus important dans les cellules neurosécrétrices pauvres en grains, en phase sécrétoire active que dans les cellules neurosécrétrices d'individus plus âgés dont le neuroplasme est rempli de granules élémentaires.

Envisagée pour la première fois par SANO et KNOOP (1959) dans le système neurosécréteur caudal de la tanche, la participation du Golgi à l'élaboration — sous forme figurée — des substances neurosécrétées a été ensuite suggérée par NISHITSUTSUJI-UWO (1960-1961) dans la *pars intercerebralis* des Lepidoptères, par SCHARRER et BROWN (1961) chez *Lumbricus*, par BERN et coll. (1961) puis BERN (1962) chez les Hirunidés.

On s'entend actuellement sur le schéma d'élaboration suivant : les neurosécrétions de nature protéique sont élahorées au niveau de l'ergastoplasme puis le produit brut est transféré dans les citernae des dictyosomes

Sorbonne Médicale Paris

qui l'organisent à l'échelle supramoléculaire sous forme de grains denses, lesquels bourgeonnent à l'extrémité des saccules golgiennes. Chez les insectes de telles images ont été effectivement observées chez *Calliphora* par NORMANN (1965), BLOCH et THOMSEN (1966) et chez *Locusta* par GIRARDIE (1967).

Chez la mouche domestique nous avons personnellement obtenu des clichés très suggestifs à cet égard dans tous les types de neurones renfermant des grains denses (cf. p. e., pl. V, Sd).

A. GIRARDIE et J. GIRARDIE (1967) envisagent trois modes différents dans la formation des grains denses chez *Locusta* : par condensation du matériel golgien, par densification des petites vésicules golgiennes ou par agglomération d'un certain nombre de ces dernières sous une enveloppe commune agranulaire, constituant un corps multivésiculaire dans lequel s'individualisent les grains.

Nous n'avons observé chez *Musca* que le premier processus qui semble de loin le plus fréquent tant chez les Vertébrés que chez les Invertébrés.

Les granules élémentaires de neurosécrétion présentent tout un cœur dense osmiophile entouré d'une enveloppe corticale osmiophobe. Nous en distinguons deux types, le premier macrogranulaire, s'observe dans les cellules neurosécrétrices de type I et II, il est constitué par des grains denses ayant 2 500 Å de diamètre moyen, le second microgranulaire se rencontre dans les cellules neurosécrétrices de type III, moins fréquentes, il correspond à des granules élémentaires de 1 500 Å.

Divers auteurs ont signalé la présence chez certains insectes de grains à contenu osmiophobe. BASSURMANOVA et PANOV (1967) font état de tels granules dans les cellules A' de la *pars intercerebralis* de *Bombyx mori*, qu'ils dénomment « electron luscent vesicles ». Jusqu'à présent de tels éléments n'avaient été décrits que dans les *corpora cardiaca* ou les organes neurohémaux : ils ont été observés par NISHITSUTSUJI-UWO (1961) chez *Bombyx* dans les *corpora cardiaca*, par SCHARRER (1963) dans les *corpora cardiaca* de *Leucophaea*, par BLOCH et al. (1966) chez ceux de *Calliphora*, SMITH et SMITH (1966) en ont aussi signalé dans les axones des *nervi corpori cardiaci* des Phasmes. Dans les organes périsympathiques des Phasmides, nous avons personnellement observé de telles granulations osmiophobes (RAABE et RAMADE, 1967) de même que BRADY et MADRELL (1967) chez *Periplaneta* et *Schistocerca*.

Dans la *pars intercerebralis* de *Calliphora*, nous observons côte à côte des granules osmiophiles dans certaines cellules et des grains osmiophobes dans d'autres. Ce fait semble avoir échappé à BLOCH et THOMSEN qui ne signalent dans leur étude sur cet insecte que des grains denses d'aspect classique (pl. VII, fig. A et B).

HAGADORN, BERN et NISHIOKA (1963) suggèrent chez la sangsue *Theromyzon* que les granules osmiophobes dériveraient des osmiophiles (phénomène de maturation?). BASSURMANOVA et PANOV ne sont pas de cet avis car ils constatent que ces deux catégories coexistent dans une même cellule et se retrouvent en proportion constante tout au long de l'axone.

Chez *Calliphora* certaines cellules de la *pars intercerebralis* nous sont apparues pourvues uniquement de grains denses, tandis que d'autres renferment de nombreux grains osmiophobes et quelques rares grains osmiophiles.

Chez la mouche domestique nous n'avons jamais observé que des grains denses dans les cerveaux mais dans certaines conditions pathologiques (cf. F. RAMADE, *Ann. I.N.A.*, 1968) apparaissent des grains dépourvus de cœur dense.

A l'image des observations faites par BLOCH et coll. chez *Calliphora*, nous avons observé chez *Musca* un accroissement du nombre de granules élémentaires de neurosécrétion en fonction de l'âge, la densité de ces derniers étant nettement moindre chez les jeunes que chez les individus âgés.

On rencontre aussi dans le périkaryon des cellules neurosécrétrices de nombreux corps denses de type lysosome-pigment, identiques à ceux que nous avons décrits plus haut sous le terme de corps denses dans les neurones, souvent localisés au voisinage des Dictyosomes.

Le chondriome, très abondant dans les cellules neurosécrétrices est constitué par des mitochondries allongées de faible diamètre. Leur longueur n'excède pas 3 à 4 μ et leur diamètre 5 000 à 6 000 Å. On distingue dans ces dernières des crêtes longitudinales serrées et peu apparentes, sauf après fixation au glutaraldébyde, lequel est bien connu pour provoquer des dilatations du chondriome.

Enfin, le cytoplasme des cellules neurosécrétrices présente par place des neurotubules épars qui ne se groupent jamais sous l'aspect de « canaux cytoplasmiques » en contact avec le Golgi, tels que WIGGLESWORTH en donne la description chez *Rhodnius*.

A quelle catégorie décrite selon les critères histologiques classiques correspondent les trois types de cellules neurosécrétrices observées en microscopie électronique? En l'absence d'étude comparative de coupes

Source : MNHN, Paris

et de micrographies électroniques de la même région colorées au Gomori, nous ne pouvons que faire des hypothèses quant à l'homologie des diverses structures cellulaires mises en évidence par cette technique.

La fréquence relative des types I, II et III sur nos micrographies électroniques comparées à la proportion relative des catégories A, B et C, déterminées d'après leurs affinités tinctoriales nous conduirait à identifier le type I aux cellules A, le type II, le plus fréquemment observé, avec le type B et le type III avec les cellules neurosécrétrices C : seules les cellules C neurosécrétrices seraient microgranulaires.

La position respective des cellules neurosécrétrices I, II et III dans la *pars intercerebralis* sont aussi en faveur d'une telle conception, en effet les cellules neurosécrétrices I occupent souvent une position périphérique à l'image des A alors que les II sont plus profondes.

En revanche, l'observation de cellules présentant une ultrastructure intermédiaire entre les cellules neurosécrétrices I et II soulève encore le problème de l'indépendance ou d'une parenté entre ces divers types. Remsrquons cependant que dans chaque type on observe tous les intermédiaires entre les périkaryons très chargés en grains denses et ceux pauvres en grains élémentaires de neurosécrétion, ce qui ne devrait pas se produire si les cellules neurosécrétrices A correspondaient à une phase inactive et les B à une pbase active du cycle secrétoire d'une même catégorie cellulaire.

Ici, encore, nous devons insister sur le caractère purement hypothétique de nos conclusions : les homologies que nous proposons sont purement spéculatives en l'absence d'étude comparative en microscopie ordinaire et électronique d'un même cerveau.

Les neurones géants ou cellules α se distinguent aisément des cellules neurosécrétrices par leur grande taille (pl. V et VI) sur les micrographies électroniques. Leur membrane nucléaire constitue un cortex (pl. V, fig. A et B) encore plus développé que celui des neurosécrétrices de type II. Remarquons d'ailleurs que cette membrane nucléaire fortement épaissie qui atteint 7 000 Å avec une moyenne de 4 000 Å est observable en microscopie photonique sur des préparations colorées à l'bématoxyline ferrique, mais cette formation, à la limite du pouvoir résolvant de ce microscope est passée inaperçue aux auteurs qui ont étudié le cerveau de la mouche domestique avant nous (Grandori et Care). Par place, cette membrane nucléaire aberrante présente des aspects qui évoquent des phénomènes sécrétoires : des inclusions pâles semblent faire extrusion dans le cytoplasme, en des points où la paroi externe du « cortex » s'évagine et fait déhiscence. Ces masses inclusives corticales paraissent se former dans la partie profonde du « cortex » au contact du suc nucléaire, puis cheminer au travers de celui-ci vers la surface où leur contenu paraît être libéré dans le périplasme.

Les neurones géants diffèrent des cellules neurosécrétrices normales par leur ergastoplasme extrêmement développé qui est constitué par des citernae ergastoplasmiques très allongées (pl. V, fig. A et B) disposées non point parallèlement mais de façon fasciculée. A la différence des observations de Bloch et Thomsen chez *Calliphora*, nous ne remarquons pas chez la mouche domestique de dilatation vacuolaire des citernae ergastoplasmiques : celles ci aont au contraire étroites et très régulières, comme dans les cellules neurosécrétrices.

Le golgi des neurones géants est aussi fort développé (pl. V, fig. B) il élabore des grains denses d'aspect analogue aux granules élémentaires de neurosécrétion (pl. V, fig. A et B) quoique de taille plus faible comprise entre 700 et 1 000 Å et en nombre nettement moindre que dans les cellules neurosécrétrices. La rareté de ces grains et la chromophobie du périkaryon des neurones α aux réactifs classiques des neurosécrétions interdit de considérer ces éléments comme des cellules neurosécrétrices classiques.

La membrane plasmatique des neurones géants est pourvue de profondes indentations dans lesquelles pénètrent des invaginations gliales. Ces prolongements glioplasmiques (Trophosponge) renferment parfois des gliosomes et des gliotubules (pl. VI).

Les cellules vacuolaires. Ces éléments présentent en microscopie électronique une texture cytoplasmique lâche (pl. IV); mais leur particularité la plus remarquable réside dans la présence de nombreuses vacuoles intracytoplasmiques et de vésicules de taille très variable, qui paraissent confluer pour donner naissance à de très grandes vacuoles (2 à 3 par cellules) qui occupent la majeure partie du volume cytoplasmique et à l'intérieur desquelles s'observe un fin reticulum. Entre les vacuoles existent des espaces occupés par un ergastoplasme très développé et de nombreux ribosomes libres ce qui explique l'intense basophilie cytoplasmique des zones intervacuolaires. Les citernae ergastoplasmiques sont empilées en croissant et associées à des vésicules de nature golgienne. Contrairement à l'opinion de Bloch et al. (1965) qui assimilent les vacuoles à des citernae ergastoplasmiques extraordinairement distendues parce qu'ils observent à leur surface des grains épars de nature probablement ribonucléique, nous considérons qu'ils s'agit d'éléments distincts car chez la mouche domestique, nous n'observons pas toujours de grains de Palade répartis à la limite des vacuoles. La richesse du chondriome et le développement de l'ergastoplasme de ces cellules suggère une intense activité métabolique liée probablement à des phénomènes sécrétoires dans les cellules neurosécrétrices de type III avec lesquelles nous les trouvons souvent en contiguité (pl. IV).

Source : MNHN, Paris

V. RÉSUMÉ ET DISCUSSION

Nous décrivons dans cet ouvrage les résultats de nos recherches histologiques, histochimiques et ultrastructurales sur les cellules neurosécrétrices des centres nerveux céphaliques de la mouche domestique; plus particulièrement de la *pars intercerebralis*.

Les réactions signalétiques classiques des neurosécrétions : hématoxyline chromique-phloxine et fuchsine paraldéhyde nous ont montré qu'il existe dans la *pars intercerebralis* des cellules neurosécrétrices de type A (colorables en bleu par l'hématoxyline chromique et en violet pourpre par la fuchsine paraldéhyde) au nombre de 11 en moyenne, des cellules neurosécrétrices de type B, phloxinophiles et colorables en violet pâle et colorables à la fuchsine paraldéhyde au nombre de 16. De plus, parmi les cellules A on peut distinguer un sous-groupe dénommé A' qui se différencie par la taille supérieure et une moindre affinité pour la fuchsine par la fuchsine paraldéhyde, intermédiaire avec celle des cellules B.

Il existe en outre des cellules neurosécrétrices de type C, Gomori négatives mais colorables à l'azan et au picro-indigo-carmin. Celles-ci, peu nombreuses dans la *pars intercerebralis* (3 à 6) sont plus fréquentes dans les autres régions cérébrales. Les cellules neurosécrétrices de type A ne se rencontrent que dans la *pars intercerebralis* chez la mouche domestique. Il existe cependant d'autres centres neurosécréteurs cérébraux constitués par des cellules de type B et C; dans le protocérébron on rencontre en particulier un groupe de cellules neurosécrétrices latérosupérieures et un autre groupe latéro-inférieur, constitué par 4 paires de cellules B; on observe aussi des cellules périœsophagiennes, deutocérébrales et sous-œsophagiennes (5 paires de cellules B et une douzaine de cellules C se rencontrent dans le ganglion sous-œsophagien).

Nos observations apportent de nombreux faits nouveaux, lesquels avaient échappé à GRANDORI (1955) dans son étude des cellules neurosécrétrices cérébrales de la mouche domestique après coloration de Gomori. Ainsi, celui-ci ne voyait que 12 à 14 cellules neurosécrétrices dans la *pars intercerebralis* (qui correspondent aux cellules A, bien que ce chiffre soit légèrement surestimé par cet auteur). En revanche GRANDORI ne mentionne aucune cellule phloxinophile dans la *pars intercerebralis* et ne décrit comme autre centre neurosécréteur cérébral que les cellules latérosupérieures et les périœsophagiennes (qu'il dénomme deutocérébrales).

HSIAO et FRAENKEL (1966) dans leur étude sur la répartition des cellules neurosécrétrices dans le cerveau de *Phormia regina* Meig. voient plusieurs groupes de cellules neurosécrétrices dans d'autres régions cérébrales que la *pars intercerebralis* mais ils ne décrivent pas les cellules neurosécrétrices deutocérébrales antérieures et les cellules C sous-œsophagiennes. Mentionnons aussi que nos propres observations correspondent dans l'ensemble à celles de J. THERRY sur la répartition des cellules neurosécrétrices dans le système nerveux central de *Sarcophaga argyrostoma* en particulier nous observons aussi des cellules neurosécrétrices C latéromédianes dans le ganglion sous-œsophagien, cependant J. THERRY ne mentionne pas dans son étude de cellules deutocérébrales antérieures et de protocérébrales postérieures et les cellules neurosécrétrices latérales qu'elle figure sont en réalité probablement d'origine deutocérébrale.

Diverses réactions histochimiques attestent d'une grande richesse en acides aminés soufrés (cystéine-cystine) des plages de matériel neurosécrété des cellules neurosécrétrices A lesquelles prennent fortement les réactifs spécifiques de ces substances (RSR, acide performique, bleu alcian, neotetrazolium, DDD, etc.). Les cellules neurosécrétrices de type B quoique positives prennent de façon beaucoup plus faible ces divers colorants. La colorabilité des flaques de neurosécrétion au noir Soudan et au « Luxal Fast Blue » montrent que les neurohormones sont élaborées dans une région cytoplasmique riche en lipides complexes, en particulier en phospholipides. La variation d'activité des cellules neurosécrétrices en fonction de l'âge nous prouve que la charge des cellules neurosécrétrices A et B s'effectue progressivement pendant les premiers jours de la vie imaginale. Les cellules neurosécrétrices des mouches âgées de 6 heures ne présentant que quelques fines granulations Gomori positives alors que celles d'individus âgés de 5 à 6 jours voient leur cytoplasme envahi par des flaques fortement colorables à la fuchsine paraldéhyde par exemple.

Source : MNHN, Paris

L'étude de la proportion relative des divers types de neurones cérébraux dans des échantillons d'âge variant de 24 heures à 25 jours nous montre que celle-ci demeure constante; le test de χ^2 confirmant la grande homogénéité des données numériques obtenues. Ceci constitue un bon argument en faveur d'une grande indépendance des cellules neurosécrétrices de type A et B et de la multiplicité des catégories cellulaires présentes dans la *pars intercerebralis*.

L'étude de cette dernière en microscopie électronique révèle la présence de 3 types de cellules neurosécrétrices : les deux premiers sont macrogranulaires (c'est-à-dire renferment des granules élémentaires de neurosécrétion osmiophile de taille assez grande comprise entre 2 000 et 3 000 Å, le 3e microgranulaire [granule de 1 500 Å]). Nous suggérons que les types I et II correspondraient respectivement aux cellules neurosécrétrices A et B et le type III aux cellules C, mais ceci demeure hypothétique au stade actuel de nos recherches. La structure fine du cytoplasme de ces cellules s'est avéré semblable à celle des cellules neurosécrétrices décrites chez d'autres insectes. Nous avons cependant observé dans les cellules neurosécrétrices de type II et dans les neurones géants (lesquels sont très riches en ergastoplasme et renferment aussi quelques grains denses bien que considéré comme non neurosécréteurs) la présence d'une membrane nucléaire fortement épaissie en un « cortex » dense aux électrons et au travers duquel cheminent des inclusions vésiculaires qui paraissent être libérées dans le cytoplasme, images d'un phénomène de secrétion nucléaire.

A l'opposé des observations de Bloch et Thomsen (1965) chez *Calliphora* nous ne voyons pas de différence dans l'aspect des *cisternae* ergastoplasmiques des neurones géants et des cellules neurosécrétrices; dans les deux cas, les membranes cisternales paraissent minces et parallèles.

Par ailleurs, quelques recherches effectuées sur la *pars intercerebralis* de *Calliphora* nous ont révélé l'existence de cellules neurosécrétrices à granules élémentaires osmiophobes qui semblent être passés inaperçus à ces derniers auteurs.

Enfin, nous donnons la description dans ce travail des cellules vacuolaires, formations d'origine probablement névroglique qui sont toujours en contiguïté avec des cellules neurosécrétrices actives et dont les vacuoles s'accroissent pour atteindre une grande taille chez les insectes âgés.

La comparaison des images que nous avons obtenues par des techniques histologiques et histochimiques avec celles de microscopie électronique pose le problème de l'aspect réel des substances neurosécrétées. A l'opposé de Thomsen, nous ne pensons pas que les grains cytoplasmiques colorables à la fuchsine paraldéhyde des cellules neurosécrétrices de mouches très jeunes correspondent aux grains denses tels qu'on les observe en microscopie électronique, en outre, il est bien connu que certains organes neurosécréteurs ou certaines cellules négatives aux réactions de Gomori renferment de tels granules.

D'autres recherches[1] menées parallèlement à cette étude descriptive nous ont montré que dans les cerveaux de mouches intoxiquées aux insecticides se produit une disparition totale des grains élémentaires de neurosécrétion dans les cellules neurosécrétrices alors que simultanément la colorabilité de tels cerveaux s'accroît de façon considérable, fait qui contribue à attribuer les affinités tinctoriales des flaques observables en microscopie ordinaire à d'autres structures que les grains denses.

Divers schémas ont été proposés pour faire une synthèse des affinités tinctoriales des caractères histochimiques ainsi que de l'aspect ultrastructural des granules élémentaires de neurosécrétion. Schreiner (1966) résume les principales conceptions sur l'aspect macromoléculaire des matériels neurosécrétés. Rappelons que les travaux effectués chez les Vertébrés confirment l'existence d'une substance protéique (neurophysine) dont les propriétés correspondent bien au schéma de la « protéine mère », précurseur de la neurohormone imaginé par Gabe (1960). Ce précurseur protéique donne en se dépolymérisant la neurobormone proprement dite, polypeptide dont le poids moléculaire est de l'ordre de 1 000. Cependant, les travaux effectués chez les insectes suggèrent que les ou la neurohormone cérébrale est de poids moléculaire plus élevé et de nature lipoprotéique. Pour d'autres, la neurohormone n'est pas lipidique mais associée à une lipoprotéine riche en tryptophane dénommée « protéine de transfert » (carrier protein, trager protein) selon les auteurs, à la suite de A. Scharrer et B. Scharrer (1954).

1. Cf. notre publication aux *Annales de l'I.N.A.*, t. V, N.S., 1968.

Source : MNHN, Paris

Dans ces deux éventualités on peut concevoir que le précurseur protéique ou la protéine porteuse sont soit extérieures soit intérieures aux granules élémentaires de neurosécrétion. SCHREINER (1966) retient comme plus vraisemblable le second schéma. Il considère que le précurseur protéique enfermé dans les grains denses pourrait se dépolymériser pour produire la neurohormone dont les dimensions moléculaires sont assez faibles pour traverser les parois de ce dernier. Dans l'éventualité de l'existence d'une protéine porteuse, ce même auteur suggère un schéma voisin où la protéine porteuse est inclue aussi à l'intérieur des grains denses, la neurohormone étant simplement fixée, comme adsorbée à la surface, sa libération s'effectuant au travers des parois corticales de ce grain élémentaire de neurosécrétion.

Remarquons cependant que ces schémas demeurent en grande partie hypothétiques et que seule une connaissance précise de la nature biochimique des neurohormones et des protéines associées permettra d'élucider le problème de la correspondance entre les aspects figurés des neurosécrétions et la localisation ultrastructurale exacte des neurohormones.

Laboratoire de Zoologie de l'Institut national agronomique
16, rue Claude-Bernard
Paris (5e)

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

ABRAHAM (A.). — The structure of the endocrine system in the Central nervous system of the water beetle, 1964. *Acta. biol. hung.*, 15 (suppl. 6), 31.

ADAMS (C.W.M.) et SLOPER (J. C.). — The hypothalamic elaboration of posterior pituitary principles in man, the rat and dog. Histochemical evidence derived from perfomic-acid-alcian blue reaction for cystine, *J. Endoc.*, 1956, 13, 221-228.

ANDRES (K. H.). — Untersuchungen über den feinbau von spinalganglien. *Z. Zellforsch.*, 1961, 55, 1-48.

ARVY (L.), GABE (M.). — Histochemistry of the neurosecretory product of the *pars intercerebralis* of Pterygote insects, in *Neurosecretion* par Heller et Clark, 1962, 331-347. Ed. Academic Press.

BASSURMANOVA (O. K.), PANOV (A. A.). — Structure of the neurosecretory system in Lepidoptera. Light and electron microscopy of type A'. Neurosecretory cells in the brain of normal and starved larvae of the silkworm *Bombyx Mori*. L. *Gen. Comp. Endoc.*, 9, 1969, 245-262.

BERN (H. A.). — The properties of neurosecretory cells. *Gen. Comp. Endoc.*, 1962, suppl. 1, 117-131.

BERN (H. A.), HAGADORN (I. R.). — Neurosecretions, in *Structure and function in the nervous system of invertebrates*, par Bullock et Horridge, chap. 6, t. 1, 354-413. Freeman Ed. London et San Francisco.

BERN (H. A.), NISHIOKA (R. S.), HAGADORN (I. R.). — Associstion of elementary neurosecretory granules with the golgi complex. *J. Ultrastruct. Res.*, 1961, 5, 311-320.

BIANCHI (S.). — Sulla presenza di proteine di tipo cistinico o cistineico nel neurocreto delle cellule nervose dei gangli di un Lumbricidae. *Arch. Zool. Ital.*, 1963, 48, 313-321.

BLOCH (B.), THOMSEN (E.), THOMSEN (M.). — The neurosecretory system of the adult *Calliphora erythrocephala*: III. Electron microscopy of the medial neurosecretory cells of the brain and some adjacents cells. *Zeit. Zellforsch.*, 1966, 70, 185-208.

BROUSSE (P.), IDELMAN (S.), ZAGURY (D.). — Mise en évidence de lipoprotéines à groupements -SH au niveau des grains de sécrétion des cellules neurosécrétrices de la Blatte, *Blabera fusca* Br. *C.R. Acad. Sc.*, 1958, 246, 3106-3108.

BUSSELET (M.). — Données histochimiques sur les terminaisons neurosécrétrices allates d'*Antheracea permyi* Guer et *Rhodnius prolixus* Stal. C.R. Acad. Sc., Paris, 1967, 265, 754-757.

CLARKE (K.V.) et LANGLEY (P. A.). — Factors concerned in the initiation of growth and moulting in *Locusta migratoria*. *Nature*, Londres, 1962, 194, 160-162.

COUTEAUX (R.). — Neurofilaments et neurofibrilles dans les fibres nerveuses de la sangsue. *Proc. Stockholm Conf. Electr. Mic.*, 1956, 188-190.

DOGRA (G. S.), TANDAN (B. K.). — Ontogenetic fate of the neurosecretory cells in the larval brain of *Sarcophaga ruficornis* Fab. (1794). *Diptera cyclorrhapha. Experientia*, 1965, 21, 216-218.

DRAWERT (J.). — Histochemische und zytophotometrische Untersuchungen an neurosekretorischen Zellen der saateule *Agrotis segetum* Schiff. unter besonderer Berücksichtigung der DDD-Reaktion. *Acta histochem.*, 1965.

EDWARDS (G. A.) et al. — Electron Microscopy of peripheral nerves and neuromuscular junction in the wasp leg. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1958, 4, 107-114.

EPHRUSSI (B.), BEADLE (G. W.). — A technique of transplantation for *Drosophila. Amer. Naturalist*, 1936, 70, 218-225.

ESSNER (E.) et NOVIKOFF (A. B.). — Localisation of acid phosphatase activity in hepatic lysosomes by means of electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1961, 9, 773-789.

FRAENKEL (G.) et HSIAO (C.). — Hormonal and nervous control of tanning in the fly. *Science*, 1962, 138, 27-29.

—— Bursicon, a hormone which mediates tanning of the cuticle in the adult fly and other insects. *J. Inst. Physiol.*, 1965, 11, 5, 513-556.

FRASER (A.). — Neurosecretion in the hrain of the larva of the sheep blowfly, *Lucilia caesar. Quart. J. Micr. Sc.*, 1959, 100, 3, 377-399.

GABE (M.). — Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine paraldéhyde. *Bull. Micr. appl.*, 1953, 2e série, 3, 153-162.

Source : MNHN, Paris

GERSCHENFELD (H. M.), TRAMEZZANI (J.), DE ROBERTIS (E.). — Ultrastructure and function in neurohypophysis of the toad. *Endocrinology*, 66, 1960, 741-762.

GIRARDIE (A.). — Action de la *pars intercerebralis* sur le développement de *Locusta migratoria* L. *J. Ins. Physiol.*, 1964, 10, 599-696.

—— Contrôle de l'activité génitale chez *Locusta migratoria*. Mise en évidence d'un facteur gonadotrope et d'un facteur allatotrope dans la *Pars intercerebralis*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1966, 91, 3, 423-439.

GIRARDIE (A.) et GIRARDIE (J.). — Mise en évidence d'une activité neurosécrétrice des cellules C de la *pars intercerebralis* de *Locusta migratoria* par étude comparative histologique et ultrastructurale. C.R. Acad. Sc., Paris, 1966, 263, 1119-1122.

—— Étude histologique, histochimique et ultrastructurale de la *Pars intercerebralis* chez *Locusta migratoria*. *Zeit. Zellforsch.*, 1967, 78, 54-75.

GRANDORI (L.). — Anello di Weismann, metamorfosi e neurosecrezioni in *Calliphora erythrocephala* Meig. e *Musca domestica* L. *Boll. Lab. Zool. Gen. Agr. Portici*, 1955, 35, 198-243.

GRANDORI (L.) CARE et (E.). — Studio anatomo-istologico sul sistema neurosecretore in *Musca domestica* et *Calliphora erythrocephala*. *Publ. Staz. Zool. Napoli*, 1954, 24, suppl. 50-51.

—— Sulla prezensa di cellule giganti nel sistema nervoso centrale di *Musca domestica* L. *Boll. Zool. Agr. bachic.*, Turin, 1951, 17, 93-99.

GRESSON (R. A. R.), THREADGOLD (L. T.), STINSON (N. E.). — The golgi elements of the neurones of *Helix*, *Locusta* and *Lombricus*. *Cellule*, 1956, 58, 7-16.

HAGADORN (I. R.), BERN (H. A.), NISHIOKA (R. S.). — The fine structure of the supraœsophageal ganglion of the Rhynchohdellid leech, *Theromyzon rude*, with special reference to neurosecretion. *Zeit Zellforsch.*, 1963, 58, 714-758.

HANSTROM (B.). — Zwei probleme hetreff der Hormonalen Lokalisation in Insektenkopf *Acad. Univ. Lund, N.F., Adv.*, 1938, 2, 39, 1-17.

HERLANT-LEEWIS (H.). — Reproduction et neurosécrétion chez *Eeisenia foetida* Say. *Ann. Soc. Zool. Belg.*, 1956, 87, 151-183.

—— Croissance et neurosécrétion chez *Eisenia foetida* Say. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 1956, 18, 185-198.

HERMAN (W. S.) et GILBERT (L. I.). — Multiplicity of neurosecretory cells types and groups in the hrain of the saturnid morth, *Hyalophora cecropia* L. *Nature*, 1965, 205, 926-927.

HIGHNAM (K. C.). — Induced changes in the amounts of material in the neurosecretory system of the desert-locust. *Nature*, 1961, 191, nº 4784, 199-200.

—— The histology of the neurosecretory system of the adult of desert Locust *Schistocerca gregaria*. *Quart. J. micr. Sc.*, 1961, 102, 27-38.

—— The neurosecretory control of ovarian development in *Schistocerca gregaria*. *Quart. J. micr. Sc.*, 1962, 103, nº 1, 57-72.

HILL (L.). — Neurosecretory control of haemolymph protein concentration during ovarian development in the desert locust. *J. Insect. Physiol.*, 1962, 8, 609-619.

HSIAO (C.) et FRAENKEL (G.). — Neurosecretory cells in the CNS of the adult hlowfly *Phormia regina* Meigen. *J. Morph.*, 1966, 119, nº 1, 21-38.

ICHIKAWA (M.) et ISHIZAKI (H.). — Protein nature of brain hormone of Insects. *Naturt*, Londres, 1963, 198, 308-309.

JOHANSSON (A. S.). — Relation of nutrition to endocrine-reproductive functions in the milkweed Bug. : *Oncopeltus fasciatus* Dall. *Nytt. Mag. Zool.*, 1958, 7, 1-192.

KOBAYASHI (M.). — Studies on the neurosecretion in the silkworm *Bombyx mori* L. *Bull. Sericicultural Exp. Stat.*, 1957, 15, 181-273.

KOBAYASHI (M.) et YAMASAKI. — The proteinic hrain hormone in an insect *Bombyx mori* L. *Appl. Ent. Zool.*, 1966, (2), 53-60.

Van der KLOOT (W. G.). — Neurosecretion. *Ann. Rev., Ent.*, 1960, 5, 35-52.

KOPF (H.). — Uber neurosekretion hei *Drosophila* : I. Zur topographie und morphologie der neurosekretorischer Zentren hei der imago von *Drosophila*. *Biol. Zbl.*, 76, 1957, 28-42.

LEA (A. O.). — The medial neurosecretory cells and egg maturation in mosquitoes. *J. Ins. Phys.*, 1967, 13, 419-429.

LEA (A. O.), THOMSEN (E.). — Cycles in the synthetic activity of the medial neurosecretory cells of *Calliphora*, *in* Heller et Clark, *Mem. Soc. Endoc.*, 1962, 12, 345-346.

LHOSTE (J.). — Données histophysiologiques sur les cellules neurosécrétrices céphaliques et le complexe rétrocérébral de *Forficula auricularia* L. *Arch. Zool. exp. gen.*, 1963, 89, 169-183.

Source : MNHN, Paris

MALHOTRA (S. K.). — Golgi bodies in nerve cells of insects. *Nature*, Londres, 1955, 176, 886-887.
—— The cytoplasmic inclusions of the neurones of certain insects. *Quart. J. Micr. Sc.*, 1956, 97, 177-186.

MALHOTRA (S. K.), MEEK (G. A.). — What is the « Golgi apparatus» of its classical site within the neurones of Vertebrates ? *Quart. J. micr. Sc.*, 1960, 100, 339.

MEYER (G.), PFLUGFELDER (O.). — Electronenmikroskopische Untersnchungen an den *Corpora cardiaca* von *Carausius morosus* Br., *Zeit. Zellforsch.*, 1958, 48, 556-565.

MORDUE (W.). — Studies on oocyte production and associated histological changes in the neuro-endocrine system in *Tenebrio molitor* L. *J. Inst. Physiol.*, 1965, 11, 493-503.
—— Neuro-endocrine factors in the control of oocyte production in *Tenebrio molitor. J. Inst. Physiol.*, 1965, 11, 505-511.

NAISSE (J.). — Controle endocrinien de la différenciation sexuelle chez *Lampyris noctiluca* : III. Influence des hormones de la *pars intercerebralis*. *Gen. Comp. endoc.*, 1966, 7, 1, 105-110.

NAYAR (K. K.). — The neurosecretory system of the fruitfly *Chaetodacus cucurbitae* Coq. Distribution and description of the neurosecretory cells in the adult fly. *Proc. Indian Acad. Sc.*, 1954, 40, 138-144.
—— Studies on the neurosecretory cells of *Iphita limbata* Stal : I. Distribution and structure of CNS of the nerve ring. *Biol. Bull. Woods Hole*, 1955, 108, 296-307; III. The endocrine glands and the neurosecretory pathways in the adult *Zeit. Zellforsch.*, 1956, 44, 697-705.

NISHITSUTSUJI-UWO (J.). — Fine structure of the neurosecretory system in Lepidoptera. *Nature*, Londres, 1960, 188, 953-954.
—— Electron microscopy studies on the neurosecretory system in Lepidoptera. *Zeit. Zellforsch.*, 1961, 54, 613-630.

NORMANN (T. C.). — The neurosecretory system of *Calliphora erythrocephala* Meig. I. The fine structure of the *corpus cardiacum*, with some observations on adjacent organs. *Zeit. Zellforsch.*, 1965, 67, 167-169.

NUNEZ (J. A.). — Untersuchungen über die regelung des wasserhaushaltes bei *Anisotarsus cupripennis* Oerm. *Zeit. Vergleich. Physiol.*, 1956, 38, 341-354.

PALAY (S. L.). — The fine structure of secretory neurons in the preoptic nucleus of the goldfish (*Carassius auratus*). *Anat. Rec.*, 1960, 138, 417-443.

PALAY (S. L.), PALADE (G. E.). — The fine structure of neurons. *J. Bioph. Biovh. Cytol.*, 1955, 1, 69-88.

PATAY (R.). — Une nouvelle technique de coloration histochimique. *Bull. Hist. appl.*, 1934, 10.

PIPA (R. L.). — Studies on the hexapod nervous system : III. Histology and histochemistry of Cockroach neuroglia. *J. Comp. Neurol.*, 1961, 116, 15-22.
—— Studies on the hexapod nervous system : IV. A cytological and cytochemical study of neurons and their inclusions in the hrain of the Cockroach *Periplaneta americana*. *Biol. Bull. U.S.A.*, 1961, 121, n° 3, 521-534.
—— A Cytochemical study of neurosecretory and other neuroplasmic inclusions in *Periplaneta americana*. *Gen. Comp. Endoc.*, 1962, 2, 44-52.

PIPA (R. L.), COOK (E. F.). — The structure and histochemistry of cockroach neuroglia. *J. Morph.*, 1958, 103, 353-385.

PIPA (R. L.), NISHIOKA (R. S.), BERN (H. A.). — Studies on the hexapod nervous system : V. The ultrastructure of cockroach gliosomes. *J. Ultrastructure Res.*, 1962, 6, 164-170.

POSSOMPES (B.). — Effets de la section des connexions nerveuses entre le cerveau et l'anneau de Weismann sur les cellules neurosécrétrices protocéréhrales et sur la glande péritrachéenne de *Calliphora erythrocephala* Meig. *C.R. Acad. Sc.*, Paris, 1958, 246, 322-324.

POSSOMPES (B.), CHARBONNIÈRE (J.), RALISOA (B.). — Évolution des cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*, croissance des ovocytes et ovoviviparité chez *Sarcophagia arhyrostoma*. *Ann. Soc. Ent. Fr.* (N. S.), 1967 3 (3), 593-599.

POWER (M. E.). — The brain of *Drosophila melanogaster*. *J. Morph.*, 1943, 72, 517-559.

RAABE (M.). — Neurohormones chez les insectes. *Bull. Soc. Zool. France*, 1959, 84, 271-316.
—— Étude des phénomènes de neurosécrétion au niveau de la chaîne nerveuse ventrale des Phasmides. *Bull. Soc. Zool. France*, 1965, XC, 631-654.
—— Recherches sur la neurosécrétion dans la chaîne nerveuse ventrale du phasme, *Clitumnus extradentatus* : variations d'activité des différents éléments neurosécréteurs. *C.R. Acad. Sc.*, 1966, 262, 303-306.

RAABE (M.) et RAMADE (F.). — Observations sur l'ultrastructure des organes périsympathiques des Phasmides. *C.R. Acad. Sc.*, Paris, 1967, 264, 77-80.

RAMADE (F.). — Sur l'ultrastructure de la *pars intercerebralis* chez *Musca domestica* L. *C.R. Acad. Sc.*, Paris, 1966, 263, 271-274.

Source : MNHN, Paris

—— Contribution à l'étude du mode d'action de certains insecticides de synthèse, plus particulièrement du Lindane et des phénomènes de résistance à ces composés. *Ann. I.N.A.*, t. V, 1967 (1968), p. 1-269, 13 pl., 42 fig.

—— Sur la présence de cellules vacuolaires dans le cerveau de *Musca domestica* L. *C.R. Acad. Sc.*, Paris, t. 266, 1968, p. 2437-2440.

Rehm (M.). — Morphologische und histochemische untersuchungen an neurosekretorischen zellen von Schmetterlingen. *Zeit. Zellforsch.*, 1955, 42, 19-58.

Rensing (L.). — Zur circadianen rhythmik des Hormonsystems von *Drosophila*. *Zeit. Zellsforsch*, 1966, 74, 539-558.

De Robertis (E.). — Histophysiologie des synapses et des neurosecretions. Gauthier-Villars, Paris, 1964, 252 p.

Sano (Y.), Knoop (A.). — Electron microskopischer Untersuchungen am Kaudalen neurosekretorische system von *Tinca vulgaris* L. *Zeit. Zellforsch.*, 1959, 49, 464-492.

Satija (R. C.). — A histological study of the brain and thoracic nerve cord of *Calliphora erythrocephola* with special reference to the descending nervous pathways. *Res. Bull. Panjab. Univ.*, Hoshiarpur (Zool.), 1958, 142, 81-96.

Scharrer (B. C. J.). — The differenciation between neuroglia and connective tissue shesth in the cockroach (*Periplaneta americana*).

Scharrer (B.). — Neurosecretion : XIII. The ultrastructure of the *corpus cardiacum* of the insect *Leucophaea maderae*. *Zeit Zellforsch*, 1963, 60, 761-796.

—— Histophysiological studies on the *corpus allatum* of *Leucophaea maderae* : IV. Ultrastructure during normal activity cycle. *Zeit. Zellforsch.*, 1964, 62, 125-148. The fine structure of Blattarian prothoracic glands. *Zeit. Zellforsch.*, 1964, 64, 301-326. [Ultrastructural study of the regressing prothoracic glands of Blattarian Insects. *Zeit. Zellforsch.*, 1966, 69, 1-21.

Scharrer (E.), Brown (S.). — The formation of neurosecretory granules in the earthworm *Lumbricus terrestris* L. *Zeit. Zellforsch.*, 1961, 54, 530-540.

Scharrer (E.) et Scharrer (B.). — Neurosekretion *in* Handbuch der mikroskopischen anatomie des Menschen. Bargmann, 1954, Bd 6, 5, 9, 953-1066, Berlin-Springer.

Schiebler (T. H.). — Die chemischen Eigenschaften der neurosekretorischen Substanz in hypothalamus und Neurohypophyse. *Exp. Cell. Res.*, 1952, 3, 249-250.

Schreiner (B.). — Histochemistry of the A cell neurosecretory material in the milkweed hug, *Oncopeltus fasciatus* Dall. with a discussion of the neurosecretory material-carrier substance problem. *Gen. Comp. Endoc.*, 1966, 6 (3), 388-400.

Shafiq (S. A.). — Cytological studies of the neurones of *Locusta migratoria* : I. Cytoplasmic inclusions of the motor neurones of the adult. *Quart. J. Micr. Sc.*, 1953, 94, 319; II. Cytoplasmic inclusions during the differenciation and growth of the nerve cells. *Quart. J. Micr. Sc.*, 1954, 95, 305.

Shafiq (S. A.), Casselman (W. G. B.). — Cytological studies of the neurones of *Locusta migratoria* : III. Histochemical investigations with special reference to the Lipochondria. *Quart. J. Micr. Sc.*, 1954, 95, 315.

Siew (Y. C.). — The endocrine control of adult reproductive diapause in the chrysomelid heetle *Galeruca tanaceti* L. : I. *J. Ins. Physiol.*, 1965, 11, 1-10. The endocrine control of adult reproductive diapause in the chrysomelid heetle, *Galeruca tanaceti* L. : II. *J. Inst. Physiol.*, 1965, 11, 463-479.

Sloper (J. C.). — Presence of a substance rich in proteine pound cystine or cysteine in the neurosecretory system of an insect. *Nature*, Londres, 1957, 179, 148-149.

Smith (D. S.), Treherne (J. E.). — Functional aspects of the organisation of the insect nervous system. *Adv. Insect Physiol.*, 1963, I, 401-484.

Smith (U.) et Smith (D.S.). — Observations on the secretory processes in the corpus eardiacum of the stick insect, *Carausius morosus*. *J. Cell. Sc.*, 1966, I, 59-66.

Stiennon (J. A.) et Drochmans (P.). — Electron microscope study of neurosecretory cells in *Phasmidae*. *Gen. Comp. Endoc.*, 1961, 1, 286-294.

Strambi (A.). — Influence du parasite *Xenos vesparum* Rossi (Strepsiptère) sur la neurosécrétion des femelles de *Polistes gallicus* L. (Hym. Vespidae). *C.R. Acad. Sc.*, Paris, 260, 1965, 3768-3769.

—— Effets de la disparition du parasite *Xenos* sur la neurosécrétion protocérébrale de son hôte *Polistes*. *C.R. Acad. Sc.*, Paris, t. 264, 1967, p. 2646-2648.

Strangways-Dixon (J.). — The relationship between hormones and reproduction in the blowfly *Calliphora erythrocephala* Meig. The effects of removing the ovaries, the *corpus allatum* and medial neurosecretory cells on selective feeding and demonstration of the *corpus allatum* cycle. *J. exp. Biol.*, 1961, 38, 627-646.

Source : MNHN, Paris

STRONG (L.). — The relationship between the brain, *corpora allata*, and oocyte growth in the central american locust, *Schistocerca* sp. : I. The cerebral nervous system, the *corpora allata* and oocyte growth. *J. Insect. Physiol.*, 1965, 11, 2, 113- 224; II. The innervation of *corpora allata*, the lateral neurosecretory complex and oocyte growth. *J. Ins. Physiol.*, 1965, 11, 271-280.

STUTINSKY (F.). — Étude du complexe rétrocérébral de quelques insectes avec l'hématoxyline chromique. *Bull. Soc. Zool. France*, 1952, 77, 61-67.

TANDAN (B. K.), DOGRA (G. S.). — An *in situ* study of cystein-rich neurosecretory cells in the brain of *Sarcophaga ruficornis* Fab. *Proc. R. ent. Soc. Londres*, 1966, 41 (4-6), 57-66.

TAXI (J.). — Contribution à l'étude des connexions des neurones moteurs du système nerveux autonome. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, Paris, 1962, 12e série, VII, 413-674.

TELFER (W. H.). — The mechanism and control of yolk formation. *Ann. Rev. Ent.*, 1965, 10, 161-184.

THERY (J.). — Recherches sur la neurosécrétion de l'ensemble du système nerveux central au moment de l'éclosion et au début de la vie imaginale chez *Sarcophaga argyrostoma*. D.E.S. Faculté des Sciences de Paris, 1967, 22 p.

THOMSEN (E.). — Effect of removal of neurosecretory cells in the brain of adult *Calliphora erythrocephala* Meig. *Nature*, 1948, 161, 139.

—— Functional signifiance of the neurosecretory brain and the *corpora cardiaca* in the female of housefly, *Calliphora erythrocephala*. *J. exp. Biol.*, 1952, 29, 137-172.

THOMSEN (M.). — The neurosecretory system of the adult *Calliphora erythrocephala* : II. Histology of the neurosecretary cells of the brain and some related structures. *Zeit. Zellforsch.*, 1965, 67, 693-717.

TRUJILLO-CENOZ (O.). — Study of the fine structure of the central nervous system of *Pholus labruscoe* (Lepidoptera). *Zeit Zellforsch.*, 1959, 49, 432-446.

—— Some aspects of the structural organisation of the arthropod ganglia. *Zeit. Zellforsch.*, 1962, 56, 649-682.

WEYER (F.). — Uber drusenartige Nervenzellen im Gehirn der Honigbiene *Apis mellifica*. *Zool. Anz.*, 1935, 112, 137-141.

WIGGLESWORTH (V. B.). — The histology of the nervous system of an insect, *Rhodnius prolixus* (*Hemiptera*) : II. The central ganglia. *Quart. J. Micr. Sc.*, 1959, 100, 2, 299-313.

—— The nutrition of the central nervous system in the cockroach *Periplaneta americana*. L. The role of the perineurium and glial cells in the mobilisation of reserves. *J. expl. biol.*, 1960, 37, 500-512.

—— Axon structure and the dictyosomes in the neurones of the cockroach, *Periplaneta americana*. *Quart. J. micr. Sc.*, 1960, 101, 4, 391-488.

WILLEY (R. B.), CHAPMAN (G. B.). — The ultrastructure of certain components of the *corpora cardiaca* in Orthopteroid insects. *J. Ultrastr. Res.*, 1960, 4, 1-14.

—— Fine structure of neurons within the *pars intercerebralis* of the cockroach *Blaberus craniifer*. *Gen. comp. Endoc.*, 1962, 2, 31-43.

Source : MNHN, Paris

PLANCHES

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

ABRÉVIATIONS UTILISÉES DANS LES PLANCHES

I	Cellules neurosécrétrices de type I (macrogranulaires).
II	Cellules neurosécrétrices de type II (macrogranulaires).
III	Cellules neurosécrétrices de type III (microgranulaires).
γ	Globuli.
δ	Neurone normal non secréteur.
Ax	Axone.
ANs	Axone neurosecréteur.
C	Cortex cérébral (Perikaryon des neurones).
Cg	Citernae golgiennes.
Ch	Bloc de chromatine.
Chr	Chromosomes interphasiques.
Co	Cortex osmiophobe des granules élémentaires de neurosecrétion.
Cv	Cellule vacuolaire.
Cx	« Cortex nucléaire » (modification de la membrane nucléaire des cellules neurosecrétrices de type II et des neurones géants).
Ds	Desmosome.
EN	Lobe nucléaire.
Er	Ergastoplasme.
G	Golgi.
Gd	Grains denses, osmiophiles.
Gi	Gliosomes.
Gl	Lames gliales.
Glc	Glie corticale.
Ly	Lysosome-pigment, désignés aussi sous le terme imprécis de corps denses par certains auteurs.
Mi	Mitochondries.
Ml	Corps multilamellaires.
N	Noyau.
Ng	Neurone géant.
NGls	Noyau de gliocytes superficiel.
NGm	Noyau de gliocytes médullaire.
NOc	Nerf ocellaire.
Nov	Granule élémentaire de neurosécrétion osmiophobe (vide?).
Npb	Noyau des périblastes.
Npl	Neuropiles.
Ns	Granules élémentaires de neurosécrétion (= grains denses osmiophiles).
Nt	Neurotubules.
Nuc	Nucléole.
Nv	Cellule nevroglique.
Sd	Secrétion golgienne (grains denses).
Sm	Secrétion nucléaire.
Spr	Spires ergastoplasmiques.
Ta	Tissu adipeux.
Tr	Trophosponge.
tr	Trachéoles.
V	Vacuoles des cellules vacuolaires.
Va	Vacuoles adipeuses.
Vg	Vacuole golgienne (= saccule).

8 564031 6

BIBL. DU MUSEUM D'HIST. NATUR.

Source : MNHN, Paris

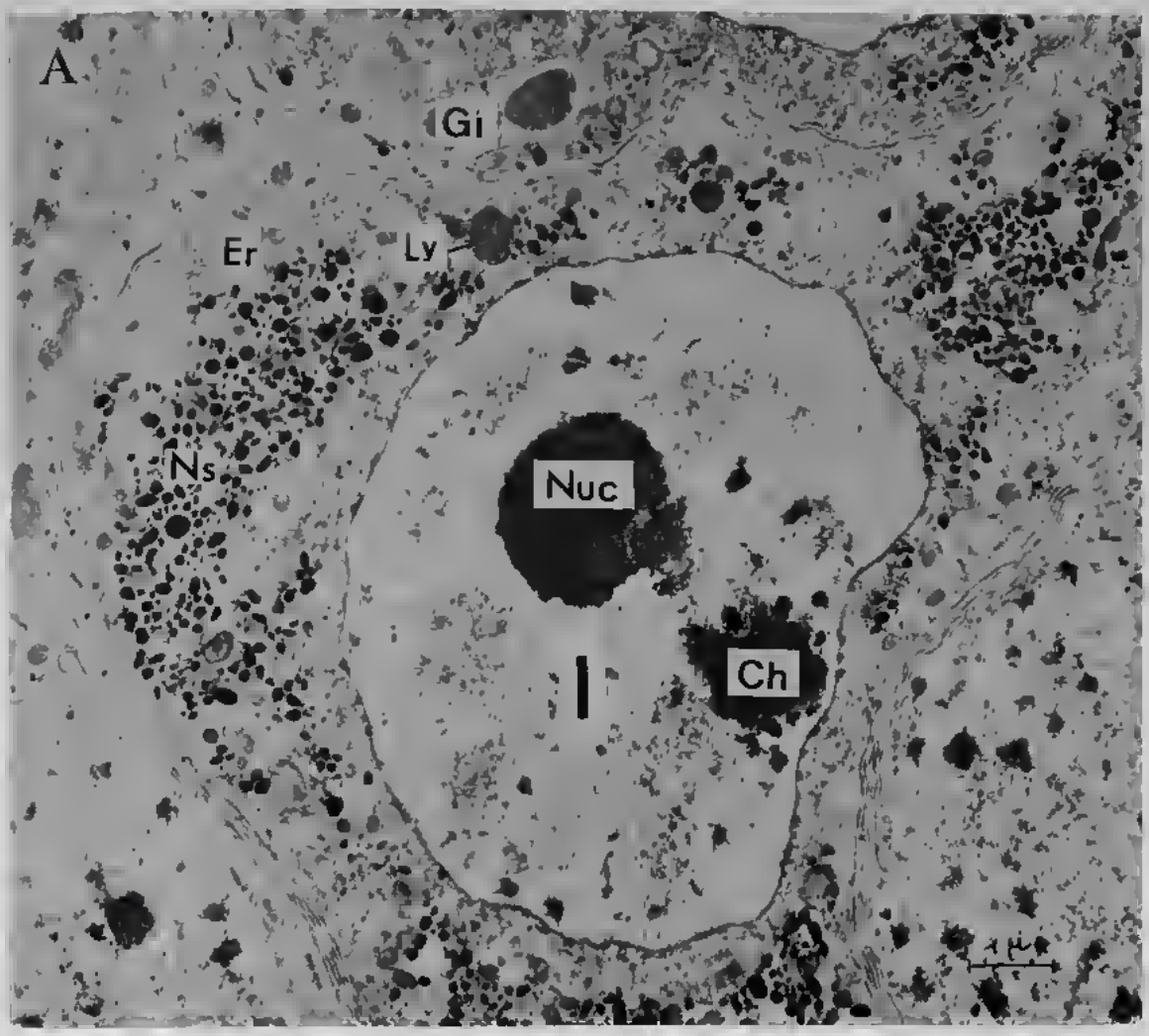
PLANCHE I. — Cellules neurosécrétrices de type I

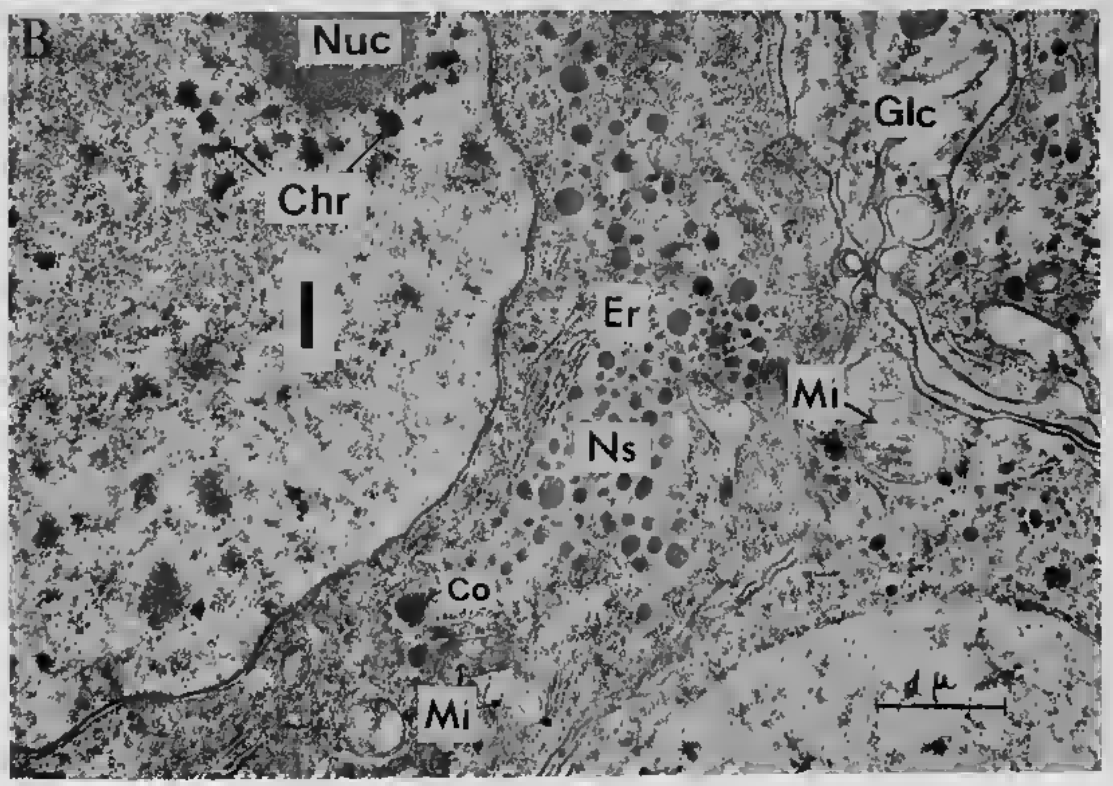
FIG. A. — Fixation au Millonig.

FIG. B. — Fixation au glutaraldéhyde — acide osmique pH 7,6.

La membrane nucléaire est d'aspect classique, le noyau de forme régulière présente un volumineux nucléole et des amas très osmiophiles (Chr) considérés par certains auteurs comme des chromosomes interphasiques.

Source : MNHN, Paris





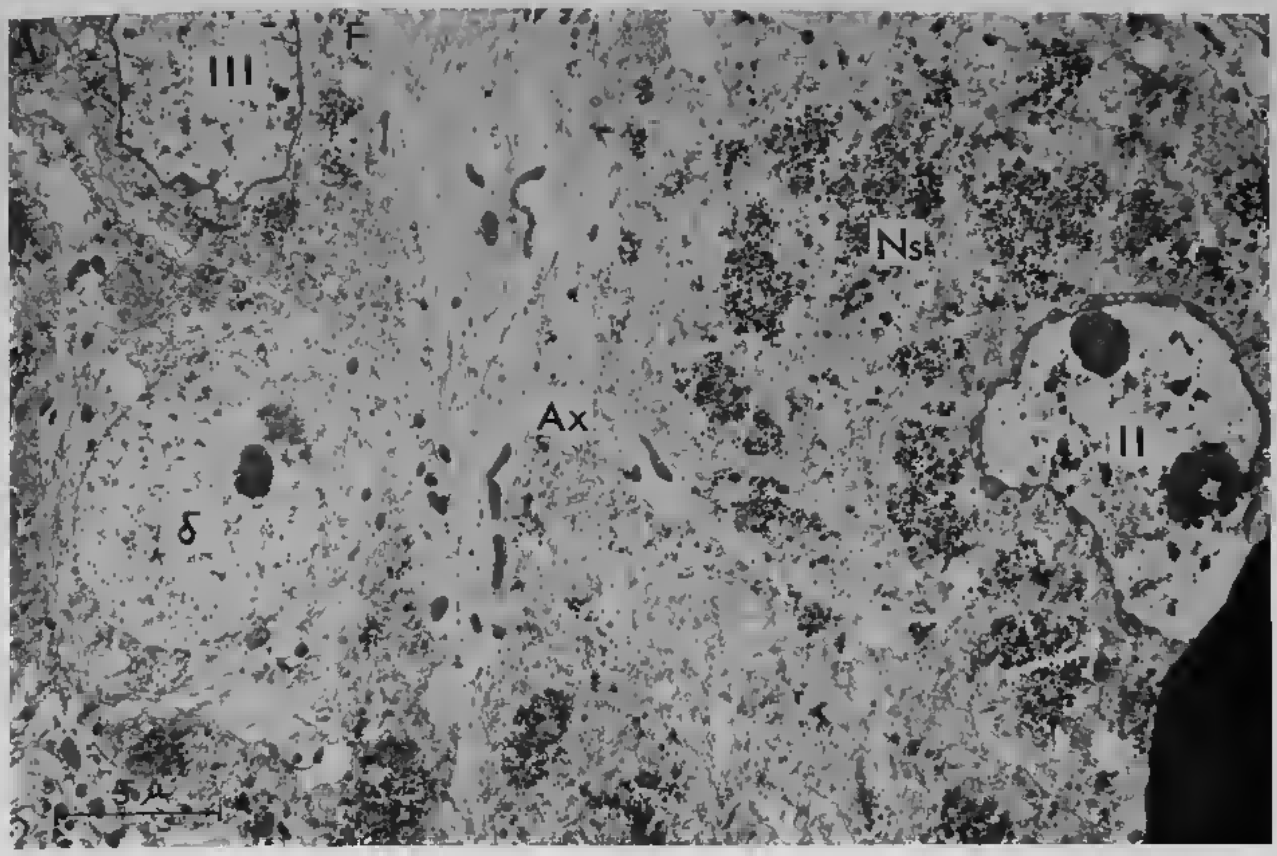
 Source : MNHN, Paris

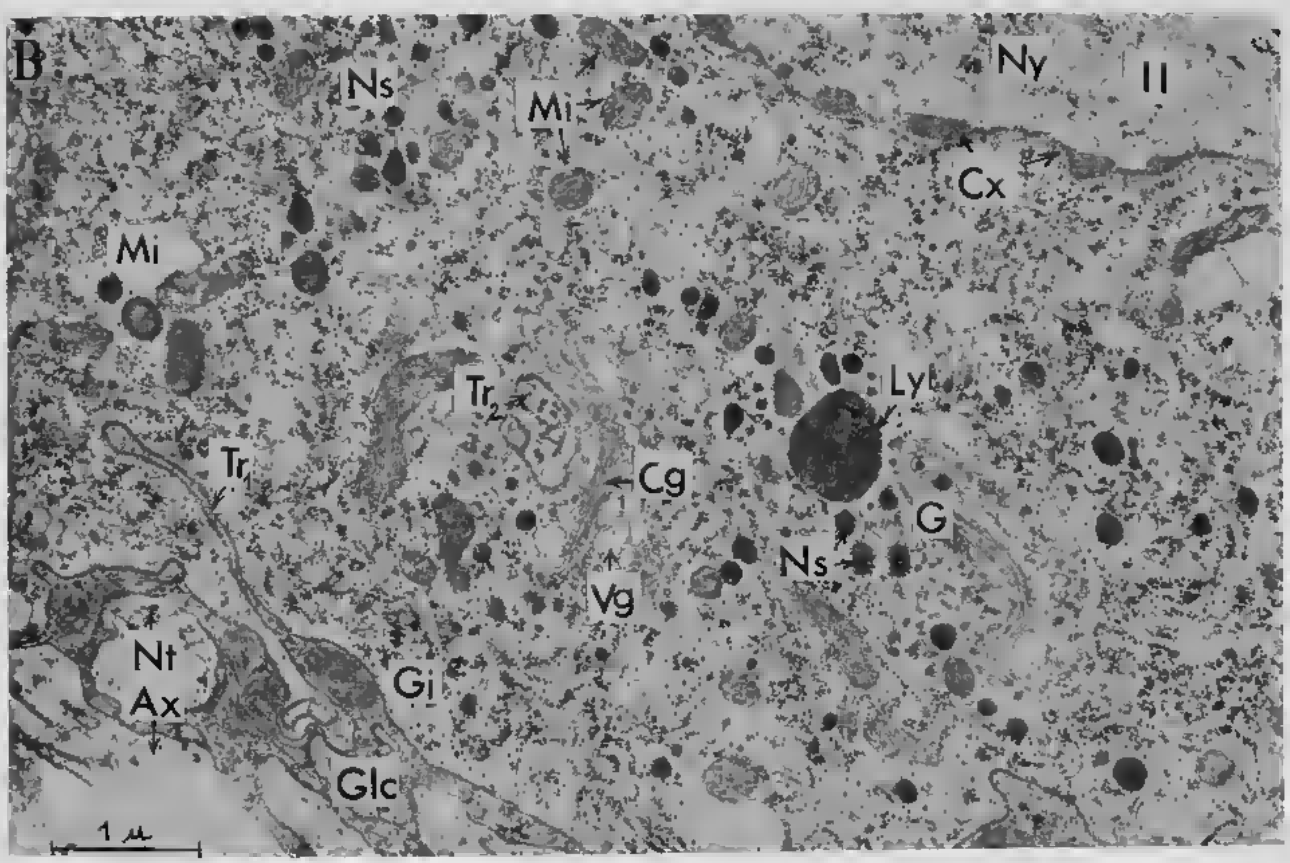
Planche II

Fig. A. — Vue d'ensemble d'une région latéromédiane de la *pars intercerebralis* : en haut à gauche, une cellule neurosécrétrice de type III (microgranulaire), en bas et à droite, perikaryon de cellule neurosécrétrice de type II. Ces dernières sont caractérisées par un noyau aux contours irréguliers et une membrane nucléaire modifiée en un épais cortex.

Fig. B. — Détail d'une cellule neurosécrétrice de type II. Remarquer le cortex nucléaire, les régions golgiennes et les nombreux granules élémentaires de neurosécrétion. On observe aussi un trophosponge, pénétration de la glie à l'intérieur du cytoplasme, coupé longitudinalement en Tr1 et transversalement en Tr2; de nombreux ribosomes. Les cisternae ergastoplasmiques, coupées transversalement sur ce cliché sont peu visibles.

Source : MNHN, Paris





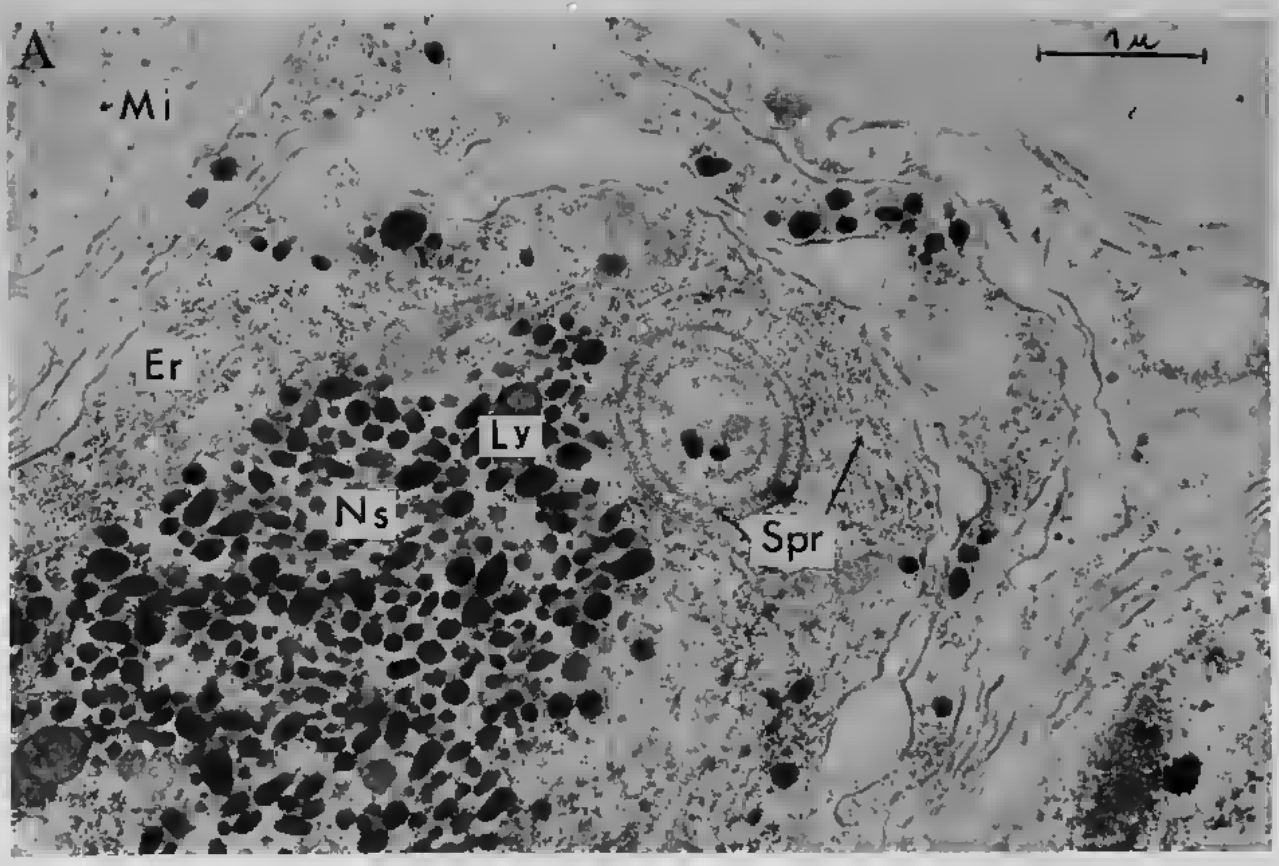
Source : MNHN, Paris

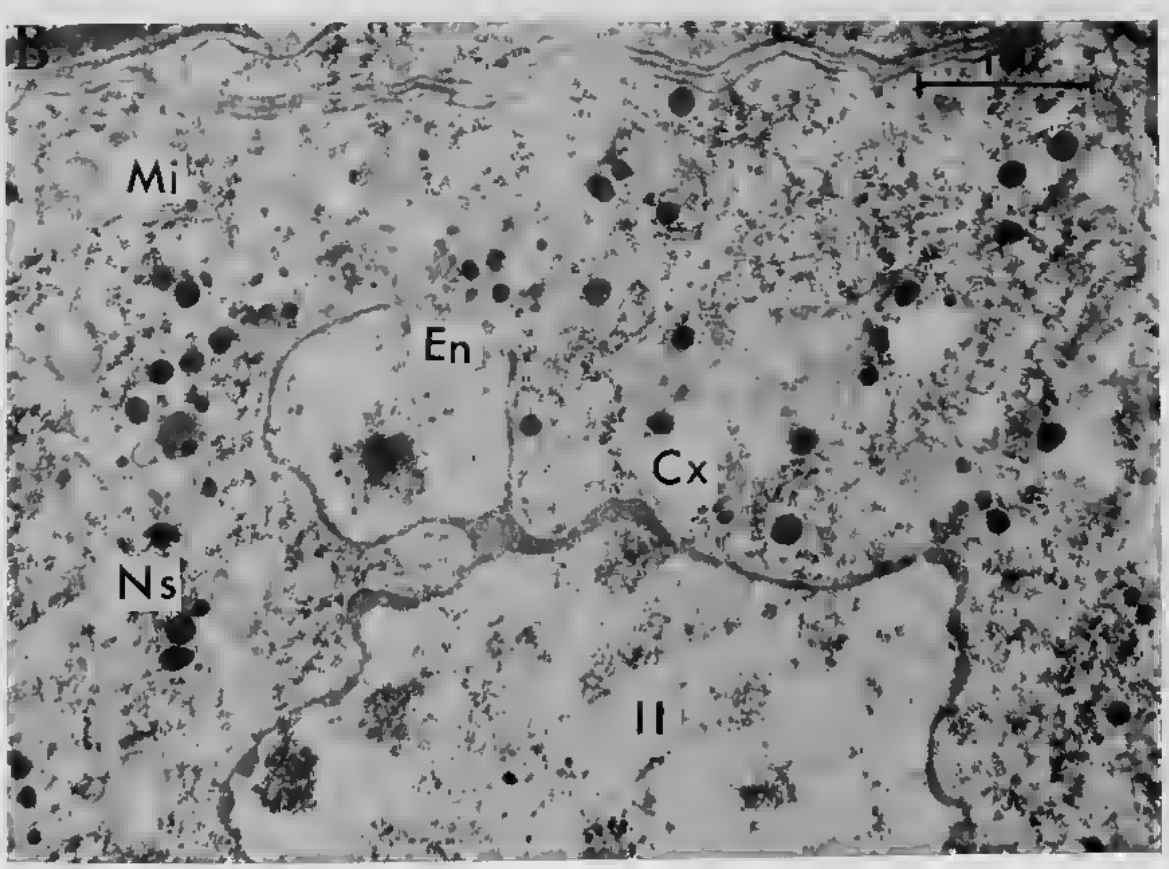
Planche III

Fig. A. — Spire ergastoplasmique (Spr) dans une cellule neurosécrétrice.

Fig. B. — Noyau d'une cellule neurosécrétrice de type II, émettant un lobe très individualisé : de telles figures sont interprétées comme des images liées à une intense activité métabolique, éventuellement, phase d'élaboration des neurohormones.

Source : MNHN, Paris

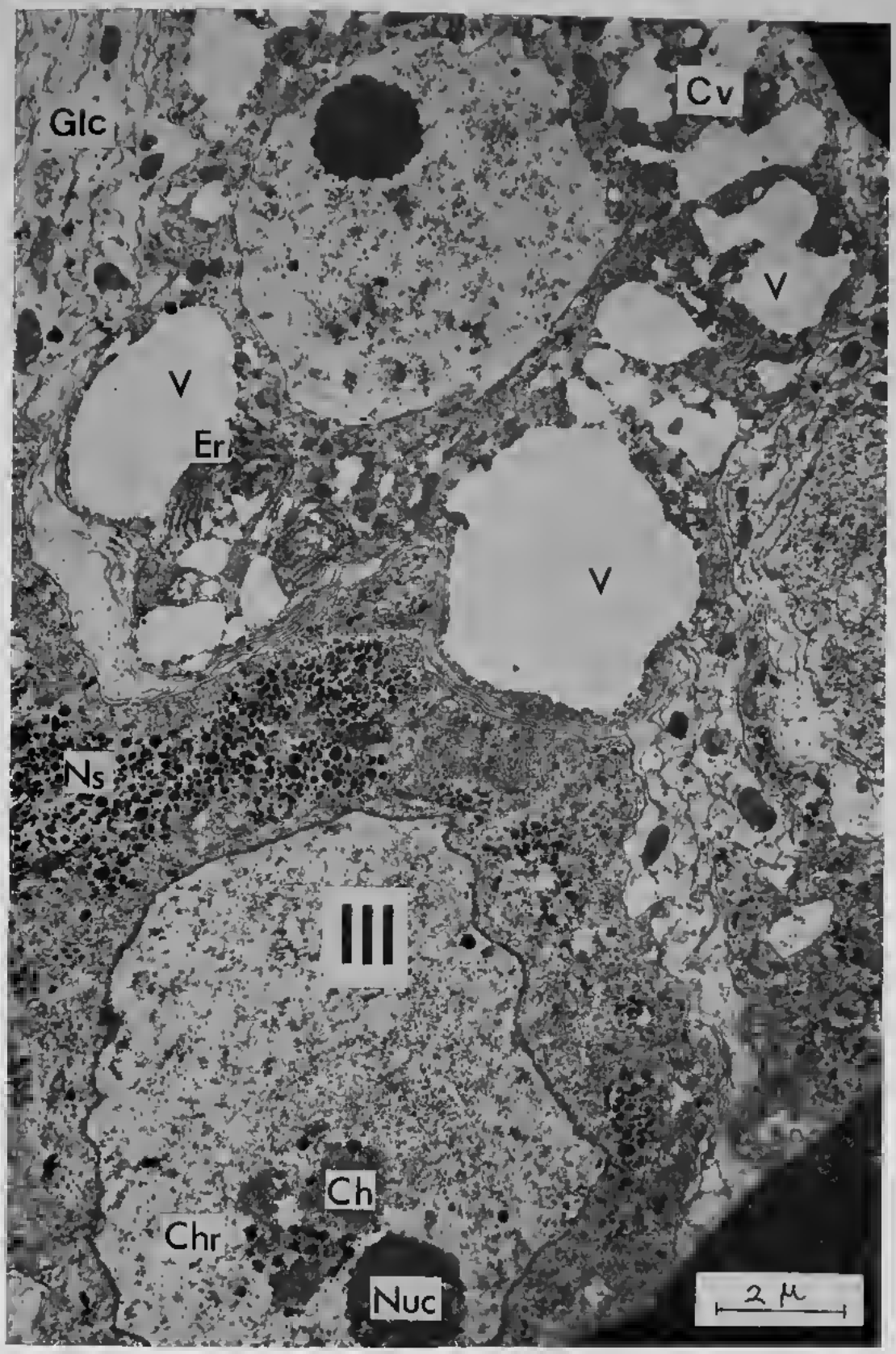




Source : MNHN, Paris

PLANCHE IX. — Cellule neurosécrétrice de type III (microgranulaire) à gauche et cellule vacuolaire jeune (à droite). Les granules élémentaires de neurosécrétion sont de dimension moyenne inférieure à 1500 Å ; on remarque d'autre part dans la cellule vacuolaire un ergastoplasme très développé et de nombreuses vacuoles de taille variable.

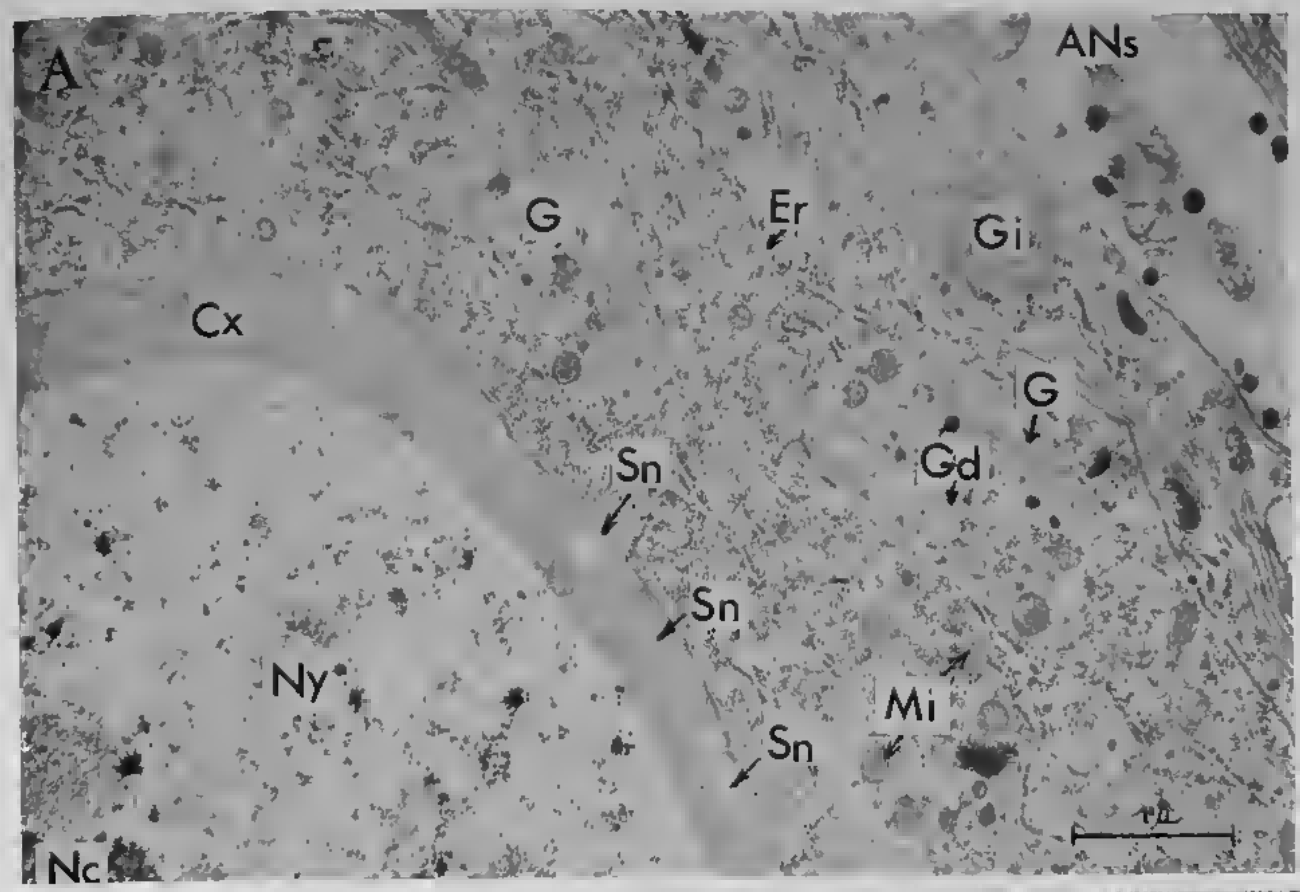
Source : MNHN, Paris

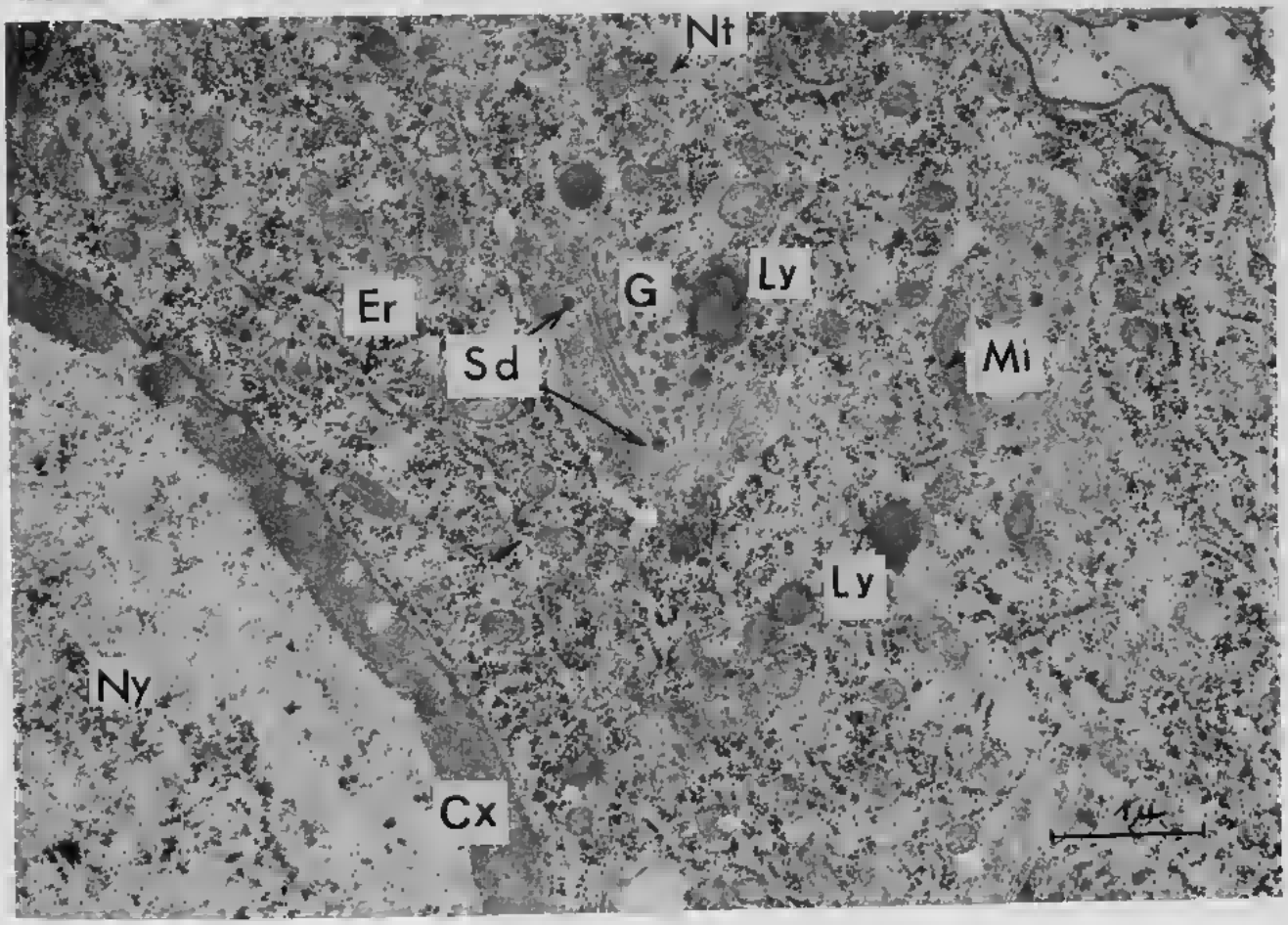


Source : MNHN, Paris

PLANCHE V. — Neurones géants (ou neurones de type α). Remarquer la membrane nucléaire distendue en un épais « cortex » au travers de laquelle cheminent des inclusions osmiophobes (images de sécrétions nucléaires?), l'ergastoplasme très développé, à disposition fasciculée. Les régions golgiennes, au voisinage desquelles se rencontrent des grains denses — semblables à ceux des cellules neurosécrétrices, un d'entre eux perle à l'extrémité d'une citernae golgienne au milieu de la figure B.

Source : MNHN, Paris





Source : MNHN, Paris

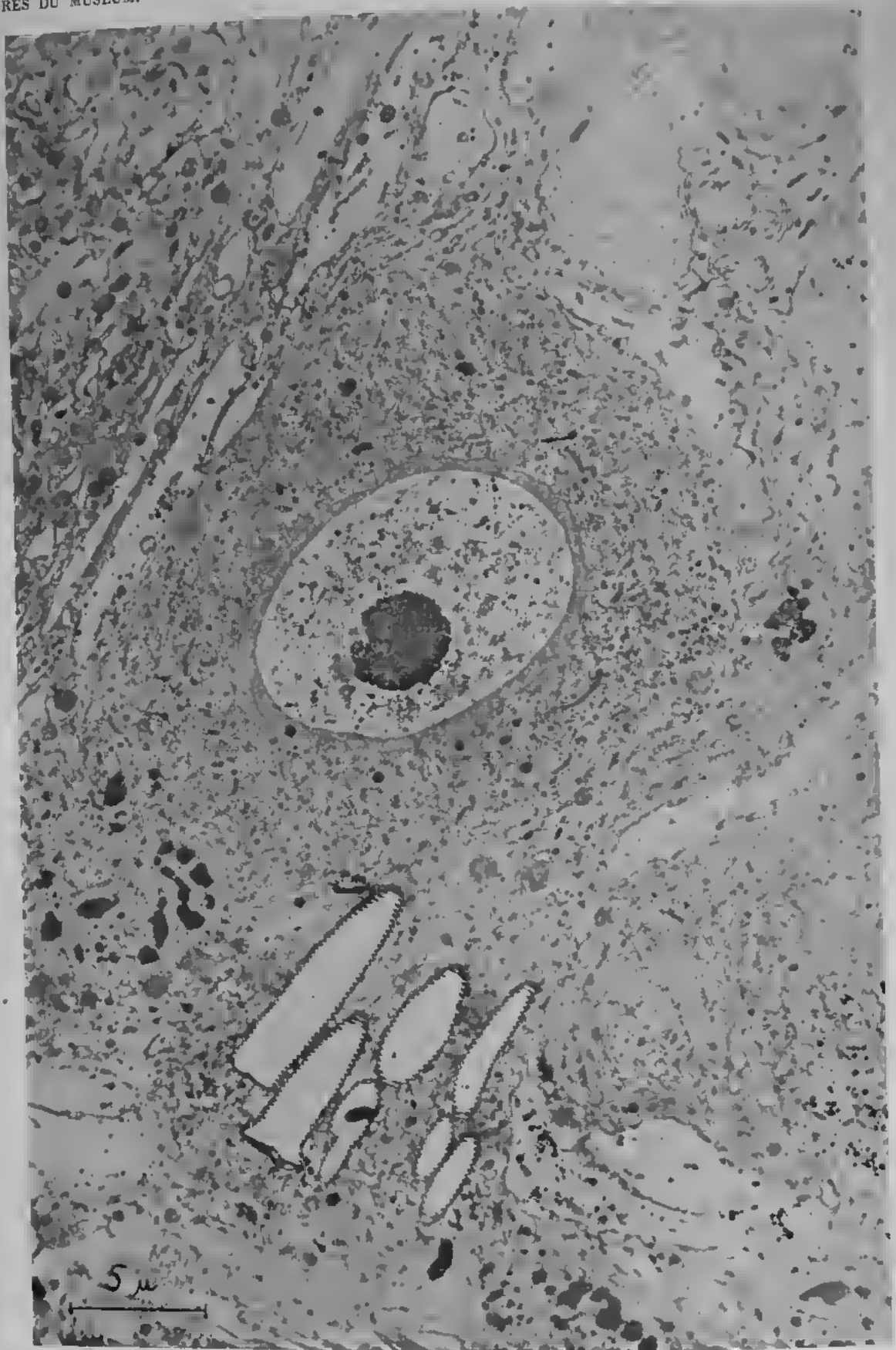


PLANCHE VI *a*. — Cliché à faible grandissement (× 5.200) d'un neurone géant, dans la partie profonde de la *pars intercerebralis* montrant ses rapports avec les structures gliales adjacentes. Remarquer aussi les sections de fibres du faisceau médian, en haut à gauche et en bas du cliché, chargées de grains élémentaires de neurosécrétion.

Source : MNHN, Paris

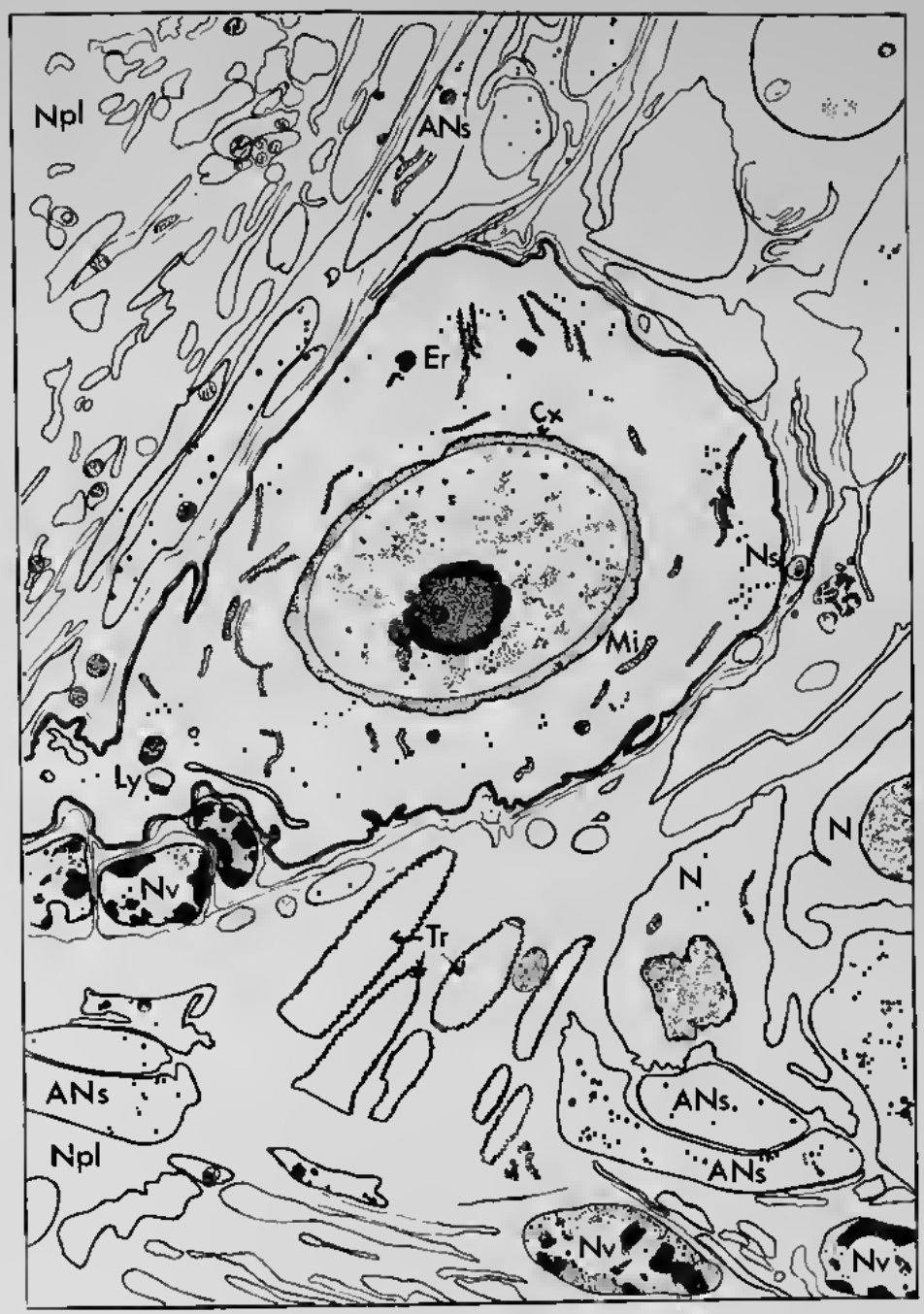


PLANCHE VI *b*. — Schéma interprétatif des diverses structures que renferme le cliché de la planche VI *a*.

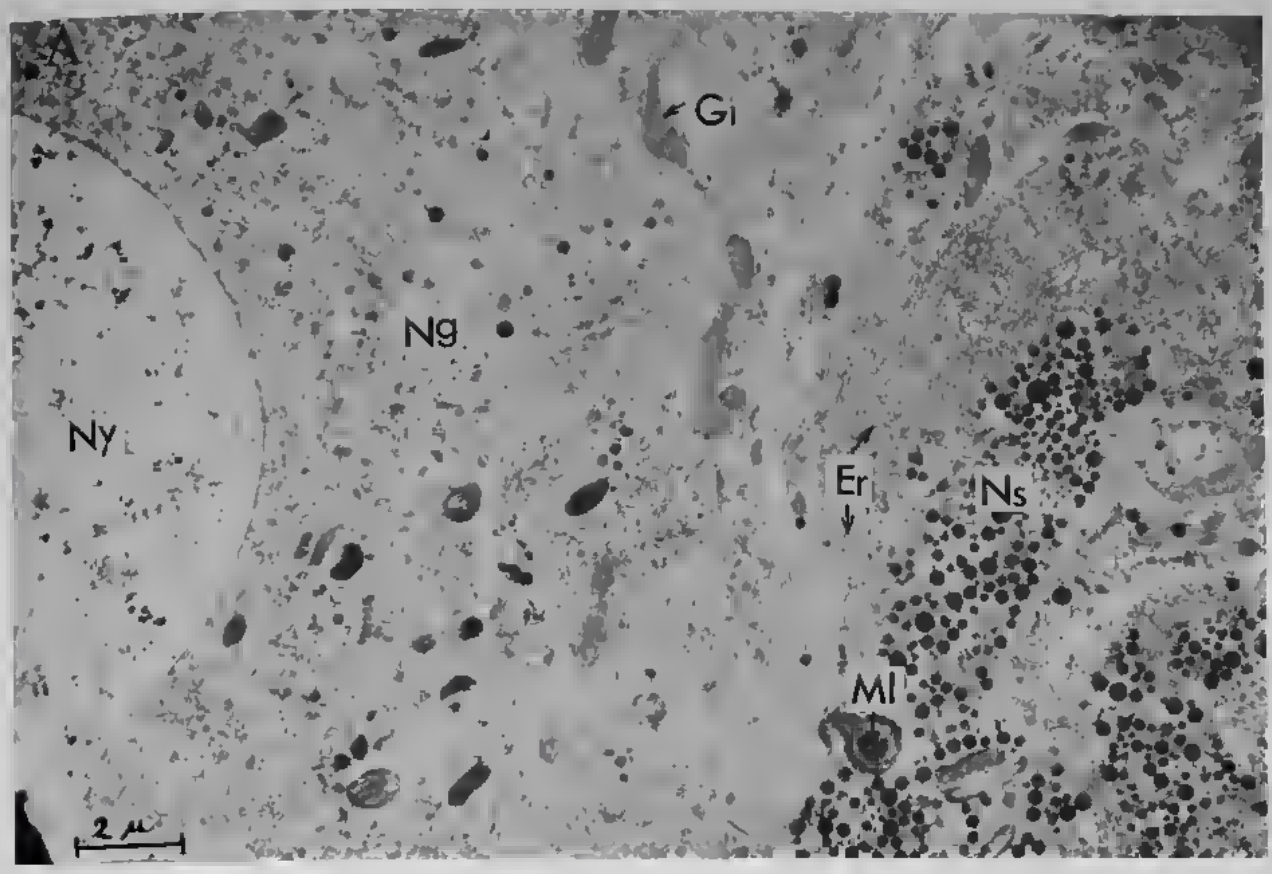
BIBL. DU
Source : MNHN, Paris

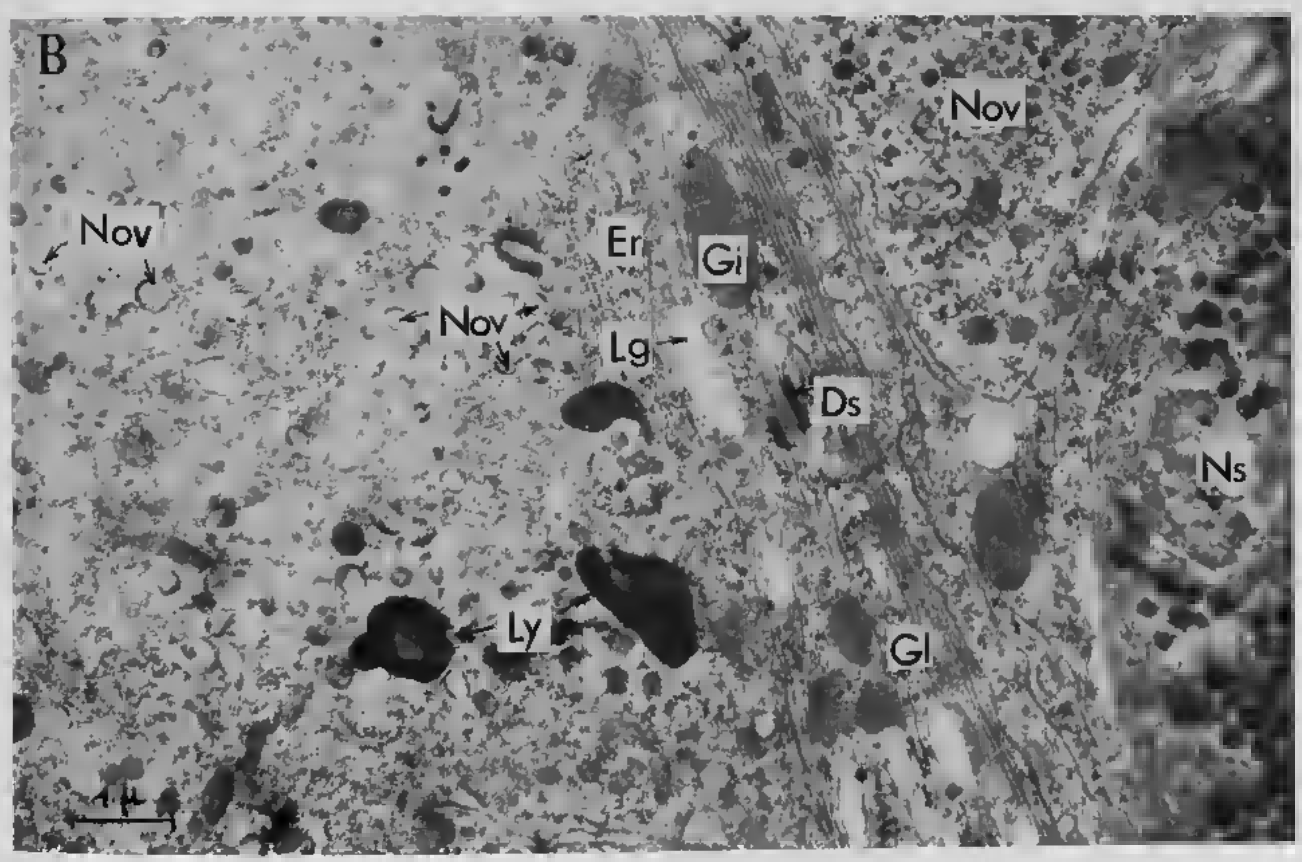
PLANCHE VII. — *Calliphora erythrocephala* Meig.

FIG. A. — Vue à faible grandissement d'un neurone géant, à gauche, et du cytoplasme d'une cellule neurosécrétrice à droite.

FIG. B. — Région centrale de la *pars intercerebralis*. On remarque sur ce cliché deux cellules neurosécrétrices à grains élémentaires osmiophobes (Nov) et à droite une partie du cytoplasme de cellules neurosécrétrices (Nov) et à droite une partie du cytoplasme de cellules neurosécrétrices à grains denses osmiophiles. On n'avait jamais observé, jusqu'alors de grains osmiophobes dans la *pars intercerebralis* chez les insectes, sauf chez Bombyx. Observer la couche gliale, séparant les cellules neurosécrétrices dans laquelle existent des gliosomes, deux desmosomes et de nombreux espèces lacunaires gliaux.

Source : MNHN, Paris





Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris